Über „Plasmoptysen"-Mykorrhiza.

Von **Karl Demeter.**

Mit 5 Abbildungen im Text und Tafel VII.

Inhalt:

		Seite
I.	Zur Anatomie der Wurzel	406
II.	Die Infektion und die weitere Ausbreitung des Pilzes in der Wurzel	409
III.	Die verschiedenen Organe des Endophyten	412
IV.	Zur Cytologie der infizierten Wirtszellen	421
V.	Pilz uud Wurzelwachstum	426
VI.	Die Verteilung des Endophyten innerhalb der Wirtspflanze und die Frage der Stoffleitung	430
VII.	Die Isolierung des Wurzelpilzes	433
VIII.	Der isolierte Pilz und seine Ernährungsphysiologie (mit Tabelle)	434
IX.	Die Synthese	446
X.	Das biologische Verhältnis zwischen Pilz und Pflanze	447
XI.	Zusammenfassung der Ergebnisse	451

Einleitung.

Das Problem der Mykorrhiza ist bis heute ungelöst. Manche ihrer Formen sind noch wenig oder überhaupt nicht untersucht. Solange diese Voraussetzungen nicht gegeben sind, kann man nicht daran denken, die Mykorrhizenfrage allgemein schlüssig zu beantworten.

Unter dem Namen „Plasmoptysenmykorrhiza" verbirgt sich der frühere irreführende Name der „Sporangiolenmykorrhiza". Diese war bis jetzt nur ungenügend bekannt, obwohl sie rein zahlenmäßig die am meisten verbreitete ist. Insbesondere schien es von Interesse, die „physiologisch-anatomischen" Verhältnisse genauer zu untersuchen, sodann den Pilz rein zu kultivieren und mit ihm ernährungsphysiologische Untersuchungen anzustellen; denn darüber schwebte noch völliges Dunkel. Als Objekte für die Untersuchungen wählte ich Vertreter der Apocyneen und Asclepiadeen, insbesondere Vinca minor. Wenn vorliegende Ausführungen einen kleinen Baustein liefern zu den vielen, die schon geliefert sind und noch geliefert werden müssen, um das Mykorrhizenproblem zu lösen, dann wird ihr Zweck vollkommen erfüllt sein.

Ich möchte nicht versäumen, auch an dieser Stelle Herrn Professor Burgeff für das entgegengebrachte große Interesse den gebührenden Dank auszusprechen, ebenso Herrn Geheimrat v. Goebel für die freundliche Überlassung der Institutsmittel. Die Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität München im Juni 1921 begonnen und dortselbst im Februar 1923 beendet.

I. Zur Anatomie der Wurzel.

Die mittlere Dicke einer jungen Wurzel von Vinca minor beträgt im Durchschnitt ungefähr 0,3 mm, bei Asclepiadaceen etwas mehr.

Wir finden eine normale Epidermis, dann folgt nach innen eine aus zweierlei Zellarten bestehende Schicht, die sogenannte Exodermis. Die eigentliche Rinde besteht aus meist fünf Lagen weitlumiger, in Längsrichtung gestreckter Parenchymzellen. Den Abschluß bildet gegen den Zentralzylinder die aus langgestreckten Zellen bestehende Endodermis. Der Zentralzylinder nimmt an Breite nicht ganz ein Drittel des gesamten Wurzelquerschnittes ein.

Die uns am meisten interessierende Zellschicht ist die Exodermis, weil sie für das Eindringen des Pilzes in die Wurzel von größter Wichtigkeit ist.

Sie besteht aus sogenannten Kurz- und Langzellen. Die Kurzzellen sind identisch mit den cellules de passage Janses (23) und den Durchlaßzellen Burgeffs (6). Zwischen zwei (in der Fläche vier) Langzellen ist immer eine Kurzzelle eingeschaltet, so daß die Wurzeloberfläche, mit schwacher Vergrößerung betrachtet, einen schachbrettartigen Eindruck machen würde, wenn sich der Betrachter nicht durch das Mißverhältnis im Längenausmaß der Langzellen und Kurzzellen stören ließe. Einen besseren Vergleich erlaubt vielleicht die Anordnung der Spaltöffnungsmutterzellen zu den übrigen Epidermiszellen eines jungen Monocotylenblattes. Diese würden den Langzellen, jene den Kurzzellen entsprechen.

Die Langzellen sind immer in der Längsrichtung der Wurzel gestreckt und mindestens doppelt so lang als breit. Die Kurzzellen dagegen sind annähernd quadratisch oder rund, haben eine abaxiale starke Wandverdickung (Kalotte) und verändern sich im weiteren Verlaufe nicht mehr. Nur in ihrer Höhe (in ihrem radialen Durchmesser) unterscheiden sich die beiden Zellarten nicht voneinander. Die Kurzzellen besitzen dauernd einen lebenden Protoplasten mit Zellkern, während die übrigen Exodermiszellen abgestorben sind. Das steht mit der später zu erwähnenden chemischen Beschaffenheit der Zellmembran und den physiologischen Aufgaben der Kurzzellen in Zusammenhang. Bei älteren Wurzeln tritt die Exodermis an Stelle der Epidermis; von dieser sind nur mehr wenig Überreste zu finden.

Zunächst aber noch einige Bemerkungen über die Entwicklungsgeschichte der Exodermis. Nach Kroemer (22, S. 64) gibt es

drei Typen für die Ausgliederung der „Kurzzellen-Interkuten". Wir haben es hier mit Typ II zu tun; denn die Exodermis von Vinca läßt sich als selbständige Schicht bis an die zentrale Gewebemasse des Meristemkegels verfolgen. Ihre Initialen entstehen — wenige Zellen vom Scheitelpunkt des Vegetationskegels entfernt — aus dem Urinitialen für Wurzelhaube, Wurzelhaut, Exodermis und Rindenparenchym.

4—5 Zellen hinter der Stelle, wo die Wurzelhaube aufhört, die Wurzelspitze zu bedecken (also 0,5 mm hinter der Wurzelhaubenspitze), beginnt die Exodermis sich in Kurz- und Langzellen zu differenzieren, d. h. die Langzellen strecken sich longitudinal, werden inhaltsärmer und verkorken, die Kurzzellen verdicken ihre abaxiale Wand und bekommen die sogenannte Kalotte. 20 Zellen weiter hinten (0,94 mm von der Wurzelspitze entfernt) ist im großen ganzen die Differenzierung vollendet, die somit ziemlich rasch vonstatten geht. Wir haben die fertige Exodermis vor uns. Zum Studium der beginnenden Verkorkung der übrigen Exodermiszellen (Langzellen) wurden von Paraffin befreite 15 μ dicke Mikrotomschnitte von Vincawurzeln mit Sudanglyzerin gefärbt, nachdem sie mindestens 24 Stunden mit Eau de Javelle vorbehandelt waren.

Im folgenden seien der Beschaffenheit der Kalotte in den Durchlaßzellen einige Worte gewidmet.

Geprüft wurde auf Zellulose, Lignin, Suberin, Kallose und Pektinstoffe (an Hand von Tunmann (41)). Als Objekte dienten Vinca minor, Vincetoxicum officinale und Asclepias Cornuti.

Zellulose und Suberin scheiden für die Auflagerung der Durchlaßzellen aus. Nach Juel (21) und Busich (7) ist sie verholzt.

In unserem Falle gibt nur Asclepias und Vincetoxicum eine deutliche Holzreaktion mit Phloroglucin-Salzsäure. Dabei stellt sich heraus, daß die Kalotte aus zweierlei Schichten besteht, einer äußeren, die verholzt ist, und einer inneren, die bei starker Lichtbrechung entweder ganz farblos ist oder einen ins Gelblich-grüne gehenden Schimmer zeigt. Diese ist bei Asclepias Cornuti besonders deutlich von der äußeren zu unterscheiden, und ihre Dicke beträgt ungefähr die Hälfte von jener, bei Vincetoxicum viel weniger.

Die Doppelfärbung nach Chodat (41) mit 1% ammonakal. Kongorot und 1% Chrysoidin ist besonders wirksam, indem sich die verholzte Schicht schön gelb färbt, während die innere lichtbrechende das Kongorot aufnimmt. Die Färbung mit Kongorot beruht aber

nicht auf Vorhandensein von Zellulose; denn Jodschwefelsäure und Chlorzinkjod geben keinerlei Reaktion.

Bei Vinca minor fehlt die äußere verholzte Schicht, die Phloroglucinreaktion verläuft vollständig negativ. Dagegen gibt hier die Kalotte sämtliche Reaktionen wie die innere Schicht bei Asclepias. Bei Untersuchung der Vincawurzeln war mir schon immer aufgefallen, daß an manchen die Kalotten nur sehr spärlich ausgebildet waren oder überhaupt fehlten, was mir zu der Vermutung Anlaß gab, die Verdickung müßte aus einem Stoff bestehen, der sehr leicht abgebaut werden kann. Genauere Angaben über eine mögliche Periodizität dieser Erscheinung, z. B. in Beziehung zur jeweiligen Jahreszeit, kann ich leider noch nicht machen.

Jedenfalls war es nicht erstaunlich, als sich mit Kallose-Reagentien positive Resultate einstellten.

Mit Korallin-Soda ergibt die Wandverdickung der Durchlaßzellen von Vinca nach 5 Minuten Einwirkung deutliche Rotfärbung.

Besser und sicherer ist die Methode von Russow mit Anilinblau (41). Bei Vinca stellt sich nach einstündiger Einwirkung eine kräftige Blaufärbung der abaxialen Wandverdickung ein, außerdem sind nur mehr die Pilzhyphen leicht blau gefärbt (Pilzkallose?). Bei Vincetoxicum und Asclepias ist die äußere Schicht der Kalotte violett, die innere leuchtend hellblau gefärbt. Bei Asclepias konnte ich ferner eine deutliche und regelmäßige Tüpfelung der äußeren verholzten Schicht wahrnehmen, so daß die ganze Kalotte vergleichsweise den Eindruck einer Siebplatte macht, die aber nur einen einseitigen Kallosebelag aufweist. Die Tüpfel haben, nebenbei bemerkt, bei der Infektion der Pflanze durch den Pilz einige Bedeutung, worüber an anderer Stelle berichtet wird.

Keinesfalls ist jedoch die Kallose im reinen Zustand vorhanden, sondern sie muß noch mit irgendwelchen stickstoffhaltigen Substanzen untermischt sein, nämlich mit Pektinstoffen. Dreitägige Vorbehandlung mit frisch zubereitetem Kupferoxydammoniak und Auswaschen in 5 % iger Essigsäure ergibt mit Rutheniumrot eine intensive Rotfärbung der Kalotte (sowie auch der Epidermis samt den Wurzelhaaren, besonders der radialen Wände).

Stickstoffverbindungen, die mit Diphenylamin-Schwefelsäure reagieren, können jedoch in die Kalotte nicht eingelagert sein, da sich nicht die geringste Spur einer Blaufärbung beobachten läßt (im Gegensatz zu Busich (7, S. 246).

Die Kalotte ist stark quellungsfähig, nimmt z. B. bei Asclepias Cornuti in konzentrierter Schwefelsäure an Dicke bis zu ein Drittel der Zellhöhe zu, und die innere stark lichtbrechende Lamelle erleidet starke Deformationen, die sich durch zahnartiges Vorspringen ins Zellumen hinein äußert.

II. Die Infektion und die weitere Ausbreitung des Pilzes innerhalb der Wurzel.

Auf Flächenschnitten von Vincawurzeln sieht man, daß diese mehr oder weniger von einem bräunlichen verzweigten Pilzmyzel umsponnen sind, das 5 μ dick ist, und regelmäßig Querwände besitzt. Ab und zu kann man auch beobachten, daß ein Faden dieses Pilzes da, wo sich die Kalotte einer Kurzzelle befindet, verschwindet, um sie zu durchbohren. Die Identität dieses äußeren Pilzmyzels mit den wahren Endophyten kann nicht bezweifelt werden.

Mit dem Eindringen des Pilzes in das Innere der Wurzel verliert er seine Querwände, er wird „querwandlos"[1]).

Der Vorgang der Infektion selbst wurde an Hand von zahlreichen Mikrotomschichten studiert, die mit Gilson oder Juel fixiert und mit Heidenhains Hämatoxylin gefärbt waren.

Das Eindringen des Pilzes durch die Kalotte in die Durchlaßzelle konnte an mit Anilinblau gefärbten Präparaten von Asclepias Cornuti gut beobachtet werden. Die äußere Wandverdickung ist hier verholzt und mit Tüpfeln versehen. Einen dieser Tüpfel benutzt der Pilz als vorgebahnten Weg, um durchzudringen. Vorher bläht er sich stark auf, es wird ein sogenanntes „Appressorium" gebildet, das 10—15 μ dick ist (vgl. Taf. VII, Fig. 5). Die Dicke des Pilzes beim Durchdringen beträgt ungefähr das Dreifache eines Tüpfeldurchmessers; er muß also die Fähigkeit haben, die Wand bis zu einem gewissen Grade aufzulösen, um hindurchzukommen, das gilt auch für die Zellulose- und Pektinmembranen der übrigen Rindenzellen.

Die Durchbohrung der Epidermisaußenwand bietet keine Besonderheiten. In der Oberhaut selbst hält sich der Pilz nicht lange auf, sondern dringt sofort in die nächste Durchlaßzelle ein. Daß er

1) In einigen Fällen konnte ich jedoch auf Mikrotomschnitten von Vinca minor Querwände feststellen, wobei die Hyphen einen konidienförmig abgeteilten Eindruck machten, genau so, wie sich die Hyphen des Pilzes von in Agar ausgelegten Wurzeln nachträglich konidien- oder monilienförmig abgliedern, wenn sich die Stoffwechselprodukte anhäufen. Anscheinend wurden auch in den eben erwähnten lebenden Wurzeln in bestimmten Zellen die Stoffwechselprodukte des Pilzes vom Wirte nicht abtransportiert oder anderweitig verarbeitet.

gewöhnlich an der Basis eines Wurzelhaares in das Epiblem eindringt, wie Busich (7, S. 246) beschreibt, habe ich nicht beobachtet.

Das Durchdringen der ersten Zellschichten bei der Infektion muß ungemein rasch vor sich gehen, da ich unter mehreren 1000 Schnitten nur ganz wenige mit jungen Infektionsstellen erhielt.

Ob man Infektionshyphen oder Emigrationshyphen vor sich hat, läßt sich, da wir keinen Schnallenpilz vor uns haben, nur an der Verzweigungsrichtung der Hyphen erkennen, was sich aber oft infolge der vielen Schlingen, die die intrazellulären Hyphen bilden, nur schwer mit Sicherheit entscheiden läßt.

Hat sich der Pilz nun durch die Kalotte hindurchgearbeitet, dehnt er sich sofort wieder übernormal weit aus und beschreibt innerhalb der Durchlaßzelle eine mehr oder minder große Schleife (vgl. Textfig. 1 und Taf. VII, Fig. 5). Das Weitere sei an Hand von Taf. VII, Fig. 5 erklärt, wo eine junge Infektionsstelle von Vinca minor (April 1922) dargestellt ist, in etwas tangentialem Schnitt. Die Infektionshyphe kann sich schon innerhalb der Kurzzelle verzweigen, meistens tut sie es aber in der darauffolgenden ersten Rindenzellschicht. Dort werden dann in der Regel zwei (in der Fläche vier) Zellen infiziert. Die Hyphendicke beträgt von nun an ziemlich konstant 4—6 μ, solange der Pilz intrazellulär ist. Zwischen 1. und 2. Rindenzellschicht trifft man den Pilz zum erstenmal auch zwischen den Zellen an, also interzellulär. Daß er Pektinstoffe lösen kann, hat er bereits beim Durchdringen der Kalotte bewiesen (vgl. Anat. Teil, S. 408). Diese Fähigkeit kommt ihm nun bei seiner weiteren Verbreitung innerhalb der Wurzel sehr zustatten, indem er die Mittellamelle auflöst. Interzellulär finden wir den Pilz nun in der Regel zwischen der 1. und 2., 2. und 3., 3. und 4. Rindenschicht, am häufigsten zwischen der 3. und 4., niemals zwischen der Endo- bzw. Exodermis und der jedesmal an sie grenzenden Rindenzellage.

Die Dicke der interzellulären Hyphen beträgt ungefähr 3—4 μ. Festgelegt sei, daß das Propagationsmittel des Pilzes innerhalb des Wirtes die interzellulären Hyphen sind, nicht die intrazellulären. Der Endophyt dringt, indem er nach Bedarf intrazelluläre Stränge abgibt, auch weiterhin innerhalb der Zellen in die Rinde ein bis zur letzten innersten, an die Endodermis grenzende Zellenlage. Aber von der 3. Zellschicht (immer ausschließlich Epi- und Exodermis) an, unmittelbar nach der Infektion, beginnen an dem Endophyten durch Ein-

wirkung des Wirtes Veränderungen aufzutreten, die späterhin unter den „Arbuskeln und Sporangiolen" behandelt werden.

Zugleich mit dem weiteren Vordringen des Pilzes in der Wurzel nimmt auch seine Wanddicke erheblich ab, die Pilzmembran ist nur mehr ein ganz dünnes unscheinbares Häutchen und färbt sich nur mehr schwach mit Hämatoxylin (vgl. Burgeff (4) und Gallaud (16, S. 214)).

Ferner tritt auch hier die von anderen Mykorrhizen, besonders Orchideen, her bekannte Erscheinung auf, das mit dem Eindringen des Pilzes die Stärke schwindet und schon auf Distanz, wie auch aus der Zeichnung von Taf. VII, Fig. 5 ersehen werden kann. Die Stärkekörner lassen sich auch auf Mikrotomschnitten ohne inverse Tinktion recht gut als farblose, stark lichtbrechende Gebilde erkennen.

Textfig. 1 zeigt die Infektion einer ganz jungen Seitenwurzel, der Schnitt ist etwas tangential geführt. Bemerkenswert ist hier, daß die Infektionshyphe hier nicht an einer als Durchlaßzelle prädestinierten Zelle (*d*), sondern durch eine künftige Langzelle in die Wurzel eindringt.

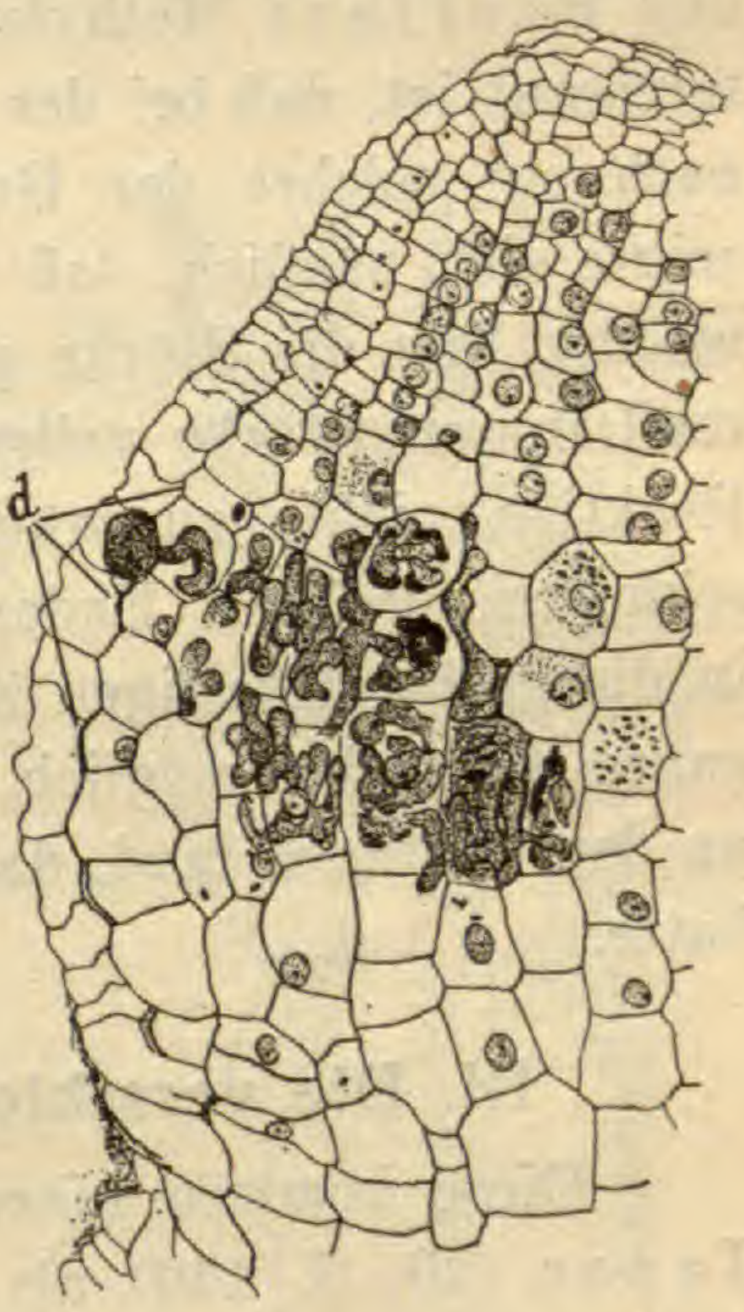


Fig. 1. Infektion einer Vinca-Wurzel unmittelbar hinter der Spitze. Vergr. 148mal.

Meines Erachtens sind es nicht bestimmte Stoffe, die durch Herausdiffundieren den Pilz in die Durchlaßzelle lokken, sondern es ist lediglich die Verkorkung der Langzellen, die es dem Pilz nicht gestattet, wo anders als durch die Kurzzellen einzudringen. Wo dieses Hindernis fehlt, wie bei dem eben erwähnten Fall, ist es für die Infektionshyphe gleichgültig, durch welche Zelle sie eindringt.

Gallaud (16, S. 316) steht auf demselben Standpunkt, und nach den neuesten Untersuchungen von K. O. Müller (30) ist gewöhnlichem Pilzmyzel die Fähigkeit des Chemotropismus abzusprechen, eine Ausnahme bilden nur gewisse Keimmyzelien. Busich (7) dagegen steht wie Janse (20) und Burgeff (4) auf dem Standpunkt des Chemotropismus und gibt zur Stütze dieser Behauptung an, daß die Durchlaßzellen besonders stark die von Molisch empfohlene Diphenylaminprobe auf Nitrate zeigen, während die übrigen Zellen

diese nicht aufweisen. Der Befund erscheint rätselhaft. Versuche an Vincawurzeln, verpilzten und unverpilzten, ergaben nicht die geringste Spur einer Blaufärbung in irgendeiner Zelle, selbst nachdem die Pflanzen 48 Stunden zu anderen Zwecken in 1 %iger Salpeterlösung gestanden waren. Mac Luckie (27) macht neuerdings auch für die weitere Ausbreitung des Pilzes innerhalb des Wirtes den Chemotropismus verantwortlich. Er schließt dies aus dem engen Kontakt des Kerns mit den Pilzhyphen bei Dipodium punctatum. Die Behauptung ist aber auf keine weiteren Tatsachen gestützt.

Daß der Pilz Sekretzellen meidet, sei auch für die Mykorrhiza der Asclepiadeen und Apocyneen bestätigt. Hier kommen nur Gerbstoffschläuche in Betracht, die mittels der Sperlichschen Jodprobe und Pfeffers Methylenblaulösung nachgewiesen wurden. Sehr interessant ist, daß bei der Infektion mit dem Verschwinden der Stärke auch ein solches der Gerbstoffschläuche Hand in Hand geht. Es zeigte sich nämlich, daß die Gerbstoffreaktion in den Wurzelpartien, wo der Pilz die Stärke gelöst hatte, nur sehr schwach ausfiel, während in mit Stärke vollgefüllten Wurzelpartien die Deutlichkeit der Reaktion nichts zu wünschen übrig ließ. So ist es nicht ausgeschlossen, daß der Endophyt auch Gerbstoff verwenden kann, ohne in die gerbstoffhaltigen Zellen selbst einzudringen. Infektion ist das ganze Jahr über möglich, obwohl ich weitaus die meisten Infektionen an dem Material fand, das ich in den Monaten März—Mai gesammelt hatte.

III. Die verschiedenen Organe des Endophyten.

Diese kommen innerhalb der Wurzel in den Regionen vor, die Janse (20, S. 140) als 2. und 3. Region bezeichnet. In unserem Falle kann nur von einer einzigen Region gesprochen werden. Denn ein Unterschied findet sich in den von mir untersuchten Pflanzen nicht vor, wie ihn Janse etwa bei Rauwolfia javanica (Apocynaceae) beschreibt, wo z. B. Sporangiolen nur in der 8. und 9. Zellschicht auftreten. Auch gibt es keine sogenannte Pilzwirtzellschicht wie bei den Orchideen.

Vesikeln können überall in der eigentlichen Rinde gebildet werden, ebenso Arbuskeln und Sporangiolen.

1. Die Vesikeln.

Vorausgenommen seien Gebilde, die eine Mittelstellung einnehmen zwischen gewöhnlichen Hyphen und Vesikeln. Interzellu-

läre Hyphen werden blasig oder wurstförmig aufgetrieben, wie z. B. auf Taf. VII, Fig. 5 oben zu sehen ist[1]). Es kann eine Hyphe gleich auf eine Strecke von mehreren Rindenzellen lang dieses Aussehen zeigen. Diese Anschwellung kann entweder terminal oder interkalar sein. Wird sie älter, dann treten mit einer Unzahl von Kernen große Fettvakuolen auf, die die ganze Breite der Hyphe einnehmen und rosenkranzförmige Anordnung zeigen. Man könnte dadurch irregeführt werden, die Protoplasmabrücken, durch die die einzelnen Vakuolen voneinander getrennt sind, für Querwände zu halten.

Bekommen nun diese Anschwellungen eine bestimmte äußere Form, werden sie also elliptisch, oval oder kugelig, dann haben wir die eigentlichen echten Vesikeln vor uns.

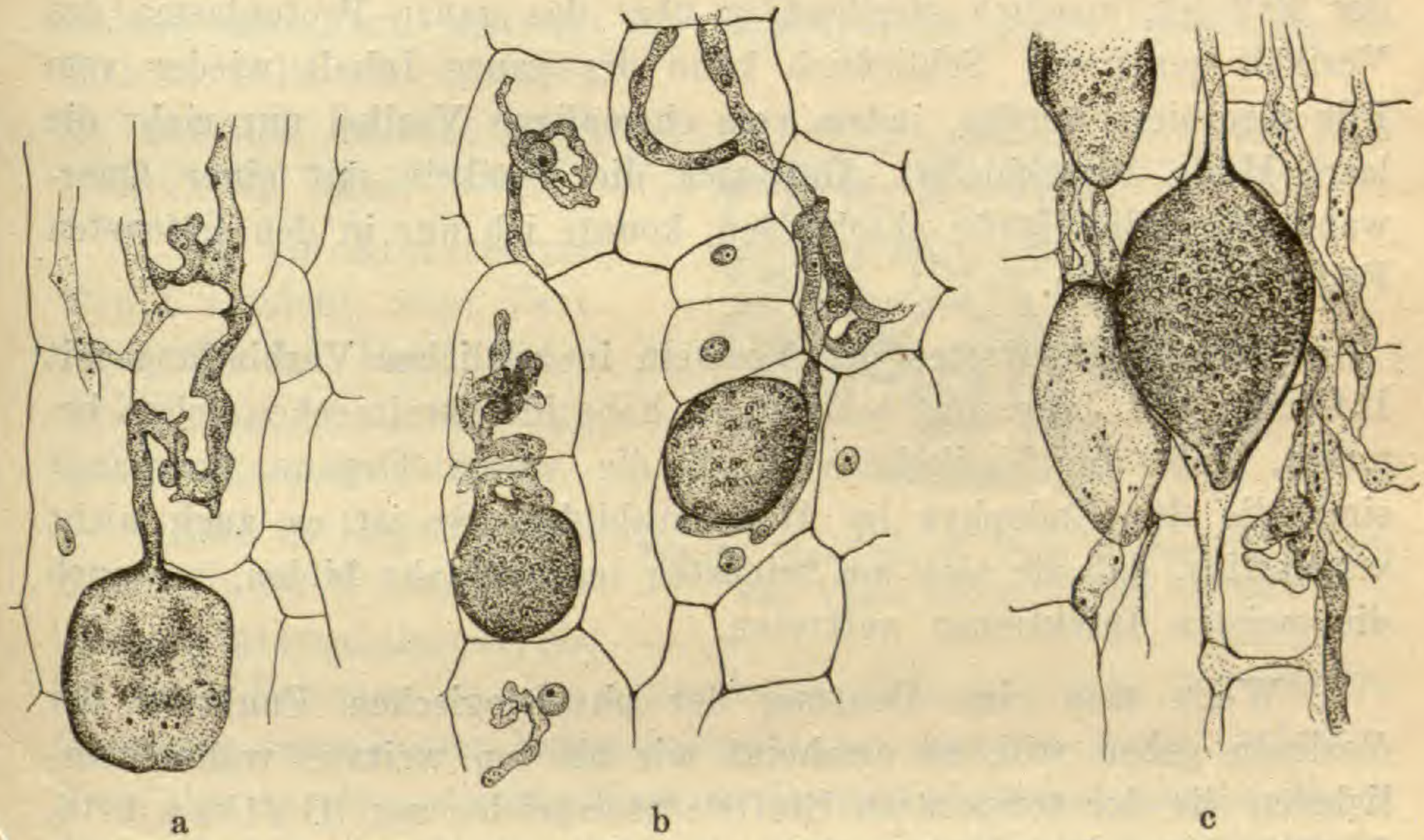


Fig. 2. Vesikeln (aus Vinca minor).
a terminal interzellulär. b terminal intrazellulär. c interkalar interzellulär.
Vergr. 322mal.

Diese können nun auf die mannigfaltigste Art und Weise entstehen. Entweder sind sie inter- oder intrazellulär. Im letzteren Falle finden sich dann regelmäßig nur terminale, kleine Vesikel (Textfig. 2b), während im ersten sowohl interkalare wie terminale gefunden werden (Textfig. 2a und c). Es kann auch eine intrazelluläre Hyphe aus einer Zelle in einen Interzellularraum austreten

1) Vgl. auch West 43, Textfig. 6b, S. 84.

und dann eine terminale Vesikel bilden, wie Textfig. 2a dartut. Busichs „Knäuelvesikel“ habe ich in dem von mir untersuchten Material nicht gefunden.

Im Jugendstadium sind die Vesikeln dicht mit Protoplasma gefüllt und beherbergen eine große Anzahl von Kernen. Die Wand verdickt sich stark und färbt sich wieder intensiv mit Hämatoxylin. Allmählich verliert aber der dichte Inhalt seine Konsistenz und wird mehr seifenschaumartig, indem sich große Fettvakuolen bilden. Diese sind voneinander durch ganz dünne Protoplasmahäutchen, worin die Kerne eingelagert sind, getrennt. Die Anordnung der Vakuolen selbst ist sehr mannigfaltig, bald findet sich zentral eine dichte Protoplasmamasse mit den Kernen und außen herum die Vakuolen, bald ist es umgekehrt, oder aber es sind die Vakuolen, wie es meist der Fall ist, ziemlich gleichmäßig über das ganze Protoplasma des Vesikels zerstreut. Schließlich kann der ganze Inhalt wieder vom Pilz resorbiert werden, indem vom ehemaligen Vesikel nur mehr die leere Hülle zurückbleibt. Daß sich die Vesikeln mit einer Querwand gegen die Hyphe abschließen, konnte ich nur in den seltensten Fällen beobachten.

Was das Auftreten der Vesikeln in zeitlicher Verbindung mit Infektion und Jahreszeit betrifft, so habe ich bereits oben schon bemerkt, daß die Vesikeln vielfach die ersten Organe überhaupt sind, die der Endophyt im Wirt ausbildet. So ist es auch nicht wunderlich, daß sie sich am reichsten im Frühjahr bilden, wo auch die meisten Infektionen auftreten.

Wenn man eine Deutung der physiologischen Funktion der Vesikeln geben will, so erscheint mir als am weitaus wahrscheinlichsten die der temporären Stoffwechselspeicherung (Gallaud 16, S. 135). Ich selbst habe an Wurzeln, die zum Zweck der Isolierung des Wurzelpilzes in Agar gelegt waren, niemals ein Auskeimen der Vesikeln beobachtet (die Wurzelstücke wurden aus dem Agar herausgenommen und, nachdem sie mit dem Mikrotom geschnitten waren, mit Hämatoxylin gefärbt). Den beiden einzelnen Fällen, in denen eine „Keimung“ von Vesikeln beobachtet wurde (Noël Bernard 2, S. 249) und Busich (7, S. 251), kann wegen ihrer Seltenheit keine große Bedeutung zugesprochen werden. Außerdem spricht für die oben vertretene Ansicht die Häufigkeit, mit der innerhalb der lebenden Wurzel leere Vesikel vorkommen, sowie die Tatsache, daß nur selten Querwände auftreten.

2. Die Arbuskeln.

Wichtiger als die Vesikeln sind im Leben der beiden „Symbionten" diejenigen Gebilde, denen Gallaud (16) den Namen „Arbuscules" gegeben hat (S. 224—226).

Er spricht von Arbuscules simples und Arbuscules composées. Wir finden beide Typen in der Mykorrhiza der Asclepiadaceen und Apocynaceen.

Der erste Typ ist immer terminal und entsteht dadurch, daß die interzellulären Infektionshyphen nach allen Seiten in die anliegenden Zellen hinein baumförmige Verästelungen treiben, mit denen das Weiterwachsen dieses Seitenastes abgeschlossen ist.

Der zweite Typ ist dadurch ausgezeichnet, daß intrazelluläre Hyphen, die zum Teil in Schlingen in den Zellen liegen, auch Arbuskeln ausbilden, während die Hyphenspitze schon bereits in die nächste Zelle eingedrungen ist, wo sich dasselbe Spiel wiederholen kann.

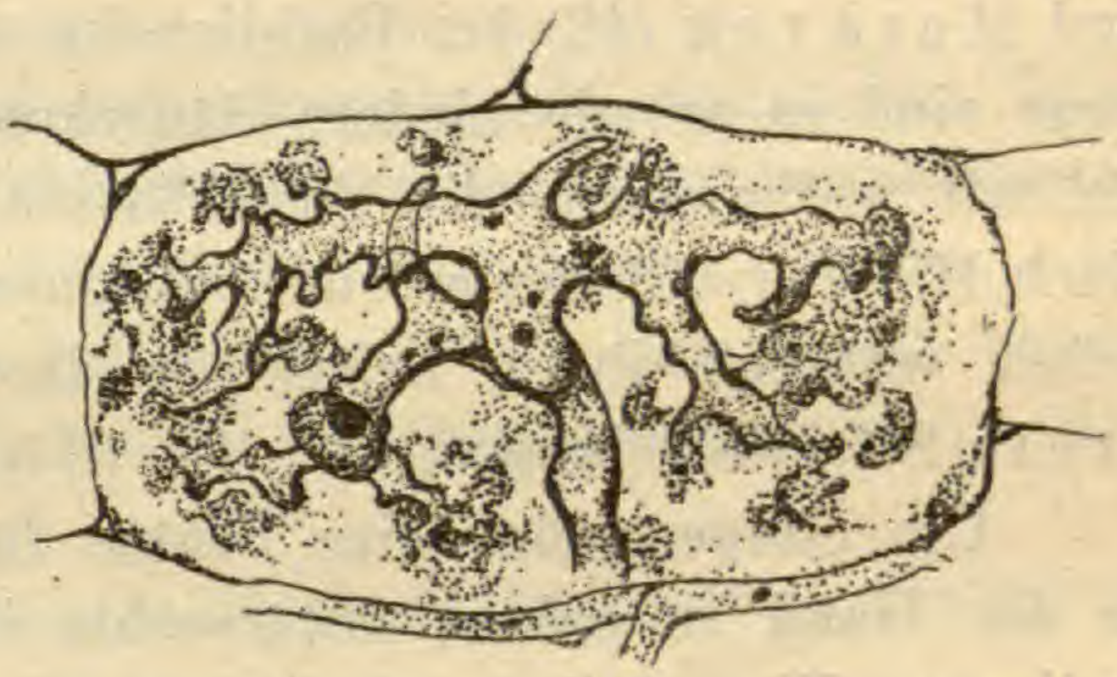


Fig. 3. Arbuskel in einer Wurzel-Rindenzelle von Vinca minor. Vergr. 788 mal.

Wie ein Arbuskel von Typ I aussieht, zeigt Textfigur 3. An Hand dieser Abbildung sei seine Entstehung kurz beschrieben.

Eine in longitudinaler Richtung die Wurzel durchlaufende interzelluläre Hyphe hat einen Seitenast in eine angrenzende Zelle getrieben, der sich infolge der veränderten Lebensbedingungen zunächst meist dichotom, dann aber in unregelmäßig bizarren Formen verzweigt und an diesen Auszweigungen wiederum kürzere, spitz zulaufende Ausstülpungen treibt, an deren Enden feine, sich stark mit Hämatoxylin tingierende, aus feinen Körnchen bestehende „Wölkchen" entstehen. Zuweilen tritt die Bildung der wolkenartigen Körnchenmassen schon viel früher auf, lange bevor sich das Arbuskel in der ganzen Zelle ausbreiten konnte.

Man bekommt bei genauerem Studium dieser Gebilde unbedingt den Eindruck, als ob die Hyphenspitzen geplatzt wären und ihren Inhalt in das Protoplasma der Wirtszelle ergössen. Es wird dabei zu Eiweißausfällungen kommen, da sich zunächst die beiden fremden Protoplasmamassen sicher nicht so gut vertragen, um sich ohne wei-

teres miteinander mischen zu können. Diese Eiweißausfällungen stellen sich als die Körnchen dar, die sich mit Hämatoxylin so intensiv färben.

Als Erklärung für das Platzen der Hyphen kann man zweierlei Ursachen anführen. In Anlehnung an Burgeff (6, S. 106) könnte man vermuten, daß die Pilzhyphen durch die Aufnahme des von ihnen durch ihr diastatisches Enzym freigemachten Zuckers nun nicht bloß wie bei den Orchideen ihren Durchmesser vergrößern, Anschwellungen und unregelmäßigen Wuchs zeigen, sondern schließlich auch infolge des hohen osmotischen Druckes, der durch die Zuckeraufnahme entstanden ist, einfach platzen und ihren Inhalt in die Wirtszelle ergießen.

Eine andere Art der Erklärung findet sich, wenn man berücksichtigt, welche Wirkung Säuren und Salze auf Pilzhyphen ausüben; ich habe hier speziell die Versuche im Auge, die kürzlich Úlehla und Moràvek (42) bei Basidiobolus ranarum angestellt haben. Und zwar sind es gerade niedere Säurekonzentrationen, wie sie auch im Zellsaft vorkommen, die das Platzen der Hyphenspitzen auslösen. Nach Höber (18) ist es eine bekannte Tatsache, daß viele Pflanzenzellen während ihres Lebens in ihrem Zellsaftraum reichlich freie Säuren bergen.

Um einigermaßen eine Stütze für die eben geäußerte Ansicht in der Hand zu haben, untersuchte ich, ob die Hyphenspitzen des isolierten Wurzelpilzes überhaupt in der Lage sind, bei einer bestimmten Säurekonzentration zu platzen. Auf exaktere Untersuchungen, wie sie von obengenannten Autoren ausgeführt wurden, muß ich leider verzichten.

Die Untersuchungsbedingungen sind hier wegen der Kleinheit der Hyphenspitzen besonders ungünstig. So ist es z. B. kaum möglich, feinere Einzelheiten wie kleine Risse in der Hyphenspitzen-Membran mit Sicherheit zu erkennen. Auch ist es technisch unmöglich, die Präparate in der Tiefe vollständig zu durchmustern, da nur mit starken Vergrößerungen gearbeitet werden kann. Ich verwandte den mit Burgeffscher Nährlösung auf 2%igem Rohrzuckeragar gezogenen Endophyten und prüfte sein Verhalten bei 0,1, 0,05, 0,01, 0,005, 0,001 n HCl.

Zur Untersuchung wurden hohlgeschliffene Objektträger verwendet und in den Ausschliff jeweils die entsprechende Lösung gebracht. Ein am Rand der Pilzkultur ausgestochenes Agarstück wurde auf ein Deckglas gebracht, das Deckglas aufgelegt und somit auch

das Agarstückchen mit dem Pilz in die Lösung getaucht. Da die Diffusionsgeschwindigkeit der H-Ionen in den Agar hinein unkontrollierbar ist, ergab sich eine andere Schwierigkeit, nämlich die Zeit anzugeben, die eine Hyphenspitze nach Einwirkung der Lösung braucht, um zu platzen. Infolgedessen wurde einfach das Resultat des Versuchs nach Verlauf einer Stunde kontrolliert. Das ist insofern nicht schwierig, als die herausgeflossenen Protoplasmamassen durch den Agar gewissermaßen in ihrer Lage fixiert werden, ähnlich wie das in der Wirtszelle durch das Wirtsprotoplasma geschieht.

Die Untersuchungen über diese „künstliche Wölkchenbildung" seien im folgenden kurz geschildert:

0,1 n HCl: Zahl der geplatzten Hyphen ca. 5 %.

Die herausgequollenen Protoplasten zeigen die von Úlehla und Moàvek bei 0,15 und 0,11 n HCl beschriebene Rosettenform.

0,05 n HCl: Zahl der geplatzten Hyphen ca. 10 %.

Die Ausflüsse sind mehr kugelig mit zahlreichen feinen Körnchen, die sich gut mit den an den Arbuskelspitzen entstehenden Protoplasmawölkchen vergleichen lassen. Der Durchmesser der ausgeflossenen Protoplasmamasse beträgt ungefähr das Dreifache des Hyphendurchmessers, d. i. 6 bis 8 μ.

0,01 n HCl: Zahl der geplatzten Hyphenspitzen etwas weniger als 10 %.

Wiederum kugelförmige körnchenreiche Protoplasmaergüsse.

0,005 n HCl: Zahl der geplatzten Hyphen ganz minimal und nicht mehr mit Sicherheit nachzuweisen.

0,001 n HCl: Zahl der geplatzten Hyphen 0.

Das Optimum dürfte demnach bei 0,025 n HCl liegen. Bei auf anderem Nährboden gezogenem Pilz (½ norm. Knop mit 1% Dextrin und 1,5% Agar) wurde die optimale Verdünnung für das Platzen der Hyphenspitzen bei 0,05 n-Salzsäure gefunden. Es ist mit Sicherheiit zu erwarten, daß der Wurzelpilz, auf entsprechend anderen Böden kultiviert, auch noch ganz anders auf die verschiedenen Säurekonzentrationen reagiert, als soeben beschrieben wurde. Zum mindesten ließe sich der Prozentsatz der unter optimalen Bedingungen geplatzten Hyphen um ein Beträchtliches höher schrauben, um näher an die von Úlehla und Moràvek erreichten Sätze heranzukommen.

Was die Verdünnungen selbst anlangt, so werden in Wirklichkeit die oben angegebenen Werte zu hoch gegriiffen sein, da man berücksichtigen muß, daß durch das in die Lösung hineingebrachte Agarstück möglicherweise die Säurekonzentration erniedrigt wird. Die Verwendung von in Nährlösung allein ohne Agar gezogenem Pilz brachte auch wieder keinen Vorteil, da sich die Hyphen so zusammenlegten und miteinander verwirkten, daß die einwandfreie Beobachtung der Spitzen hinwiederum unmöglich wurde.

Ob man nun zur Erklärung der Plasmophyse auf reine Quellungsvorgänge zurückgreifen muß, oder ob man besser mit Stern (42) sogenannte negative Osmosen dafür verantwortlich macht, lasse ich dahingestellt.

Auf Grund der oben angeführten Tatsachen möchte ich vorschlagen, diesem Typ der endotrophen Mykorrhiza einen anderen Namen zu geben an Stelle des bisher gebräuchlichen. Denn der Name „Sporangiolenverpilzung“ ist so irreführend, daß er wenigstens als Bezeichnung eines ganzen Mykorrhizatyps unbedingt fallen müßte. So schlage ich vor, in unserem Falle von „Plasmoptysen-Mykorrhiza“ zu sprechen. Dieser Ausdruck ist sehr treffend, und ich übernehme ihn von A. Fischer (12), der ihn zum erstenmal für bestimmte Involutionsformen von Choleravibrionen gebraucht hat. Bei diesen, und genauer noch bei Vibrio proteus (13), hat er beobachtet, daß die Vibrionen unter gewissen Bedingungen (künstlich durch Einwirkung von Ammoniak) platzen, indem sich das ausgetretene Protoplasma kugelig abrundet. Garbowsky (17) hat dies auch auf osmotischem Wege bei in Jauche lebenden Vibrionen erreicht; leider macht er keine genaueren Angaben darüber, welcher Art diese osmotischen Mittel sind. Jedenfalls ist es aber für die Namensgebung nicht von Belang, ob dies Platzen ein negativ osmotischer oder ein reiner Quellungsvorgang ist.

3. Übergangsstadien zur Sporangiolenbildung.

Hat sich ein reichverzweigtes Arbuskel gebildet (Textfig. 3), dann wird bald die Wirtszelle in ihrer ganzen Ausdehnung von einer Unzahl der erwähnten kleinen Körnchen ausgefüllt, die bei intensiver Färbung mit Hämatoxylin so dicht sind, daß man den Kern der Wirtszelle sowie die Pilzhyphen nur mehr undeutlich oder überhaupt nicht mehr unterscheiden kann. Bald sieht man, daß sich aus diesem körnigen Plasmagemisch einer oder mehrere oft ziemlich scharf umrissene dunkle Körnchen differenzieren (s. Taf. VII, Fig. 6 u. 7).

Darum herum findet sich oft ein eigentümlich heller Hof, der stark lichtbrechend ist[1]). Diesen Vorgang könnte man mit jenem vergleichen, der bei den Orchideen als Klumpenbildung beschrieben ist (Burgeff (4), S. 112—114), ohne aber damit von vornherein sagen zu müssen, daß hier auch eine Verdauung mit Vorteil für den Wirt im Spiel ist. Das Ganze ist zunächst als nichts anderes aufzufassen, als ein Versuch des Wirtszellprotoplasten, sich mit dem eingedrungenen artfremden Plasma des Pilzes auseinanderzusetzen bzw. es unschädlich zu machen. Denn es ist doch sicher als eine Schädigung zu betrachten, wenn einer Zelle plötzlich ganz fremdes Protoplasma samt Kernen injiziert wird und dazu in einer Menge, die vielleicht an die gesamte Protoplasmamenge der Wirtszelle heranreicht. Man bedenke nur, wenn der Vergleich erlaubt ist, welche verheerende Wirkungen durch Spuren artfremden Blutes bei Wirbeltieren ausgelöst werden. Also haben wir doch eine „maladie", aber keine „bienfaisante", wie Noël Bernard (1) sagt.

Aber auf einen anderen wesentlichen Unterschied, der gar keinen weiteren Vergleich mit der Orchideenmykorrhiza erlaubt, möchte ich noch hinweisen. Bei dieser tritt nie freies Pilzplasma mit dem Wirtsplasma in unmittelbaren Kontakt, sondern der eingedrungene Pilz wird, ohne daß sein Plasma aus der Hyphenwand herausquillt, im ganzen ausgesogen und zu den bekannten „Klumpen" zusammengeballt. Das ist ein fundamentaler Unterschied, der bei Vergleichen mit der Orchideenmykorrhiza sowie bei der Frage nach dem Vor- und Nachteil der „Symbiose" nicht hoch genug gewertet werden kann.

Die Sporangiolen.

Aus den eben erwähnten stark gefärbten und meist scharf umrissenen Körpern gehen die sogenannten Sporangiolen hervor[2]). Diese stellen also das Endergebnis des Kampfes dar, den Pilz und Pflanze miteinander zu bestehen haben (s. Taf. VII, Fig. 9).

---

1) Es ist nicht unmöglich, daß dieser helle Hof ebenso ein Fixierungsartefakt ist wie der Hof um den Nukleolus (vgl. S. 423).

2) Janse (20) hat diesen Namen eingeführt. Er ist leider sehr unglücklich gewählt, weil er zu falschen Vorstellungen Veranlassung gibt. Diese Gebilde haben natürlich mit irgendwelchen Sporangien gar nichts zu tun. Und Sporangiolen im eigentlichen Sinne sind auch wieder Sporangien, die von den gewöhnlichen nur durch ihre Kleinheit und wenigsporigen Inhalt unterschieden sind. Es ist also nur die äußere Ähnlichkeit, die Janse zu dieser Namensgebung veranlaßt hat. Es wäre sehr zu wünschen, wenn diese irreführende Bezeichnung ausgemerzt würde; aber leider muß ich gestehen, daß ich keinen wirklich guten Ersatz dafür gefunden habe.

Die Arbuskeln bilden also auch hier, wie Gallaud (16) beschreibt, ein Übergangsstadium zur Sporangiolenbildung. Zuletzt verkleinern die Sporangiolen ihre Ausmaße immer mehr und sind schließlich nur mehr als ein paar kleine, stark gefärbte, oft ohne Zusammenhang in der Zelle liegende Körperchen zu finden. Die Zelle füllt sich wieder mit Stärke; eine Neuinfektion ist wohl möglich, ich habe aber eine solche mit Sicherheit nicht nachweisen können.

Irgendeine Struktur sowie geformte Bestandteile innerhalb der Sporangiolen, z. B. die „spérules“ Janses (20, S. 157) konnte ich nicht auffinden. Im Gegenteil, die Sporangiolen selbst machen einen durchaus ungeformten und undifferenzierten Eindruck, wie es ihre Entstehung aus den zusammengeschrumpften Pilzresten nicht anders erwarten läßt. Die Sporangiolen der Asclepiadeen und Apocyneen sind, wenn man sie nun einmal unter eine Kategorie stellen will, am passendsten zu dem ersten von Gallaud beschriebenen Typ zu rechnen (16, S. 232). Bei Nachfärbung mit Eosinnelkenöl nehmen die älteren eine tiefrote Farbe an; doch kommen innerhalb ein und derselben Zelle Sporangiolen vor, die sich noch stark mit Hämatoxylin färben, und solche, die sich bereits mit Eosin röten. Zellulose konnte ich jedoch nicht finden, wenigstens hat die Chlorzinkjod-Reaktion immer nur Gelbfärbung ergeben. Jodschwefelsäure, Phlorogluzinsalzsäure, Millons Reagens und Xanthoproteïn-Reaktion zeitigten auch keine Resultate. Nur mit Jodjodkali und Eosin mit nachfolgender Differenzierung in Glyzerin ergab sich eine positive Eiweißreaktion. Woher nun dieses Eiweiß stammt, ob vom Wirt oder dem Pilz, läßt sich schwer entscheiden. Ersteres ist nicht unmöglich. Ich erinnere an die „Kappenbildung“, die Zweigelt (47, S. 306) als eine Reaktion auf das giftige Speichelsekret saugender Blattläuse beobachtet hat. Die Abwehr erfolgt hier nicht, wie in den meisten anderen Fällen von Parasitismus, durch mechanische Mittel (Zellulosekappen und ähnliches), sondern es scheinen hier auch chemische Vorgänge eine Rolle zu spielen. Denn die Kappen stehen mit dem Protoplasma der Zellen, denen sie angehören, in direktem organischen Zusammenhang, indem das Protoplasma einfach in sie übergeht.

Busich (7) schreibt S. 252, in Anlehnung an Janse (20, S. 159), daß bei den Asclepiadeen die Auflösung der Sporangiolen in die Körnchenmassen oder „granules“ zweifellos sei. Ich kann mich dieser Ansicht nicht anschließen; denn nach Vorausgehendem ist doch die Körnchenbildung unmittelbar nach dem Platzen der Ar-

buskeln das Primäre und die Unschädlichmachung und Verarbeitung dieser Plasmakörnchen samt den übrigen Pilzresten durch Umwandlung der letzteren in die kompakteren Sporangiolen das Sekundäre. Die Sporangiolen erscheinen in den hier untersuchten Fällen als keine organisierte, sondern als eine bereits desorganisierte Materie und bestehen wohl in der Hauptsache aus der kollabierten Pilzmembran.

Ihrer Entwicklungsgeschichte nach sind die Sporangiolen in ihrer lokalen Verbreitung innerhalb der Wurzel an das Auftreten der Arbuskeln gebunden. Während ich in der ersten auf die Exodermis folgenden Rindenzellschicht eigentlich niemals Sporangiolen fand (ausgenommen Apocynum cannabinum), kann man nicht sagen, daß es sonst Rindenzellen gibt, wo sie nicht vorkommen. So darf auch hier nicht von einer bestimmten „Pilzwirtzellschicht" und „Verdauungszellschicht" wie bei den Orchideen gesprochen werden. Eine Bevorzugung im Auftreten der Arbuskeln und Sporangiolen der innersten, an die Endodermis grenzenden Rindenzellschichten ist jedoch nicht von der Hand zu weisen.

Noch eine Frage drängt sich auf. Wie kommt es, daß an Infektionsstellen nur in einer gewissen Entfernung davon (mindestens 2 Zellschichten, s. Textfig. 1 und Taf. VII, Fig. 5) die sogenannten Verdauungsstadien auftreten? Hier werden niemals Arbuskeln gebildet, während sie sonst mitunter auch in der 2. Rindenzellschicht schon recht häufig sind. Dafür ist wohl der Umstand verantwortlich zu machen, daß die Infektionshyphe hier noch ihre derbe Wand vom Außenmyzel her besitzt, derzufolge sie den veränderten Bedingungen im Inneren des Wirtes noch eine Zeitlang zu widerstehen vermag, bis sie alllmählich weiter im Inneren endgültig ihre derbe Wand verliert.

W. Magnus (25, S. 256) hat auch schon bei Neottia auf diese Erscheinung hingewiesen. Er sagt: „. . . bald nach dem Eindringen des Pilzes übt der Protoplast der Verdauungszelle seine korrumpierende Wirkung aus. Der Pilz wird in dem üppigen Medium veranlaßt, die starke Membran nicht mehr zu entwickeln. Hat er sich einmal dieses Schutzes begeben, entflieht er nie mehr dem Grabe der Zelle".

IV. Zur Cytologie der infizierten Wirtszellen.

Das Verhalten der Kerne in den von dem Pilz befallenen Wirtszellen, besonders in den sogenannten „Verdauungszellen", hat von jeher das Interesse der Mykorrhizenforscher erregt.

Bei der von uns untersuchten Mykorrhiza ist auffallend, daß sich der Kern lange nicht den weitgehenden Veränderungen unterzieht, wie sie z. B. Burgeff bei den Orchideen schildert. Auch darin zeigt sich schon sehr deutlich, wie vorsichtig man sein muß, wenn man die Frage nach dem Wert der Sporangiolenverpilzung in Analogie mit der Klumpenverpilzung der Orchideen zu lösen versucht.

An Hand der vergleichenden Tabelle über Kern und Nukleolengröße (S. 424) sei diese Erscheinung bei Vinca minor genauer besprochen. Das Wurzelmaterial wurde mit Juelschem Gemisch fixiert und mit Heidenhains Hämatoxylin gefärbt.

Was die Struktur des Kerns selbst betrifft, so ist eine gewisse Hyperchromatie beim Eindringen des Pilzes in die Zelle vorhanden. Von Faber (11) hat in Zellen von Rubiaceenblättern, die dem Bakterienherd zunächst lagen, ebenfalls hyperchromatische Kerne beobachtet und glaubt, daß dies mit der Produktion von Stoffen zusammenhinge, die eine Art von „Gegengift“ gegen die zerstörende Wirkung der Bakterien bilden.

Shibata (37, S. 353) führt die Hyperchromatie auch nicht bloß auf Überernährung zurück, sondern glaubt analog zu Fabers Erklärung, daß die reichlich produzierten und ausgeschiedenen Nukleïnkörper Anteil an der Produktion von Enzymen nehmen, durch die das Zellplasma sich der Pilzmasse bemächtigt und sie völlig verdaut.

Diese Ansicht läßt sich sehr gut vereinbaren mit den Ausführungen, die ich über die Arbuskeln und deren Platzen gemacht habe, besonders, wenn man bedenkt, daß es sich zunächst doch nur um eine Unschädlichmachung des eingedrungenen fremden Protoplasten handelt und in zweiter Linie erst vielleicht um eine sogenannte „Verdauung“.

Der normale Kern von Vinca minor enthält fast durchweg nur einen einzigen Nukleolus; zwei Nukleoli habe ich auch in Kernen stark infizierter Zellen nur äußerst selten gefunden, mehr als zwei überhaupt niemals. Bei der einzigen genauer untersuchten Plasmoptysen-Mykorrhiza [Kusano (23, S. 23)] tritt eine Fragmentation in mehrere kleine Nukleoli auf.

Die äußere Gestalt des Kerns ist fast in allen Fällen im optischen Schnitt oval, die lange Achse meist in longitudinaler Richtung zur Zelle eingestellt. In der Regel ist der Kern auch in der Mitte der Zelle angeordnet, seltener in der Nähe der Zellwand. Der Nu-

kleolus ist immer eine Kugel. Der sogenannte helle Hof um ihn herum [Tischler (40, S. 81—82)] ist auch hier zu finden und wird als Fixierungsartefakt aufzufassen sein.

In lebhaft tätigen Arbuskel- und Sporangiolenzellen kann der Kern bisweilen eine mehr birnförmige Gestalt annehmen.

Eine Untersuchung der Größenverhältnisse von Kern und Nukleolus bietet manches Interessante (vgl. Tabelle S. 424).

Die Verkleinerung des Kerns von infizierten Durchlaßzellen im Vergleich zu den nicht infizierten soll nicht weiter zur Diskussion gestellt werden, weil die Anzahl der an infizierten Zellen gemachten Kernmessungen eine zu geringe ist, um daraus wichtigere Folgerungen ziehen zu können.

Anders bei den Rindenzellen. Wie die Tabelle zeigt, erreicht der Kern sein Maximum an Größe in den Zellen mit Arbuskeln und Plasmoptyse (Rubrik IV), um dann bei der Sporangiolenbildung abzunehmen, ohne aber seine frühere Kleinheit wieder zu erreichen. Die Vergrößerung des Nukleolus geht nicht parallel mit der des übrigen Kerns, sondern erreicht ihr Maximum erst, wenn die Kerngröße schon wieder abgenommen hat, also in den Rindenwurzeln mit jungen Sporangiolen (Rubrik V). Mit Erreichen des Sporangiolenendstadiums erfolgt aber auch rapide Reduktion des Nukleolus, und seine frühere Größe wird sogar etwas unterschritten (Rubrik VI).

Das Wichtigste ist, daß der Nukleolus seine Größe so lange behält, als die größte Stoffwechseltätigkeit in der Zelle herrscht (Rubrik V), während der Kern selbst anscheinend nicht unmittelbar mit dieser Tätigkeit in Zusammenhang steht, nachdem er sich zu diesem Zeitpunkt schon wieder bedeutend verkleinert hat.

Wenn nun bereits genau bekannt wäre, welche Bedeutung dem Nukleolus und dem Kerne zukommt, so könnte man aus dem Verhalten der beiden auf den Wert der Mykorrhiza schließen. Oder umgekehrt! Das letztere erscheint nicht aussichtslos, nachdem die physiologische Wirkung des Hyphenplatzens an den Arbuskeln für den Wirt zunächst doch als eine krankhafte zu bezeichnen ist.

Eine sehr gute Zusammenstellung sämtlicher Ansichten über die Bedeutung des Kernkörperchens findet sich in Tischlers Pflanzenkaryologie (40, S. 72—87). Tischler selbst stellt sich auf den Standpunkt, daß man aus der Gesamtheit aller Untersuchungen über die Natur des Nukleolus höchstens Indizien für die Reservestoffnatur dieses Gebildes entnehmen könnte, während

Haecker und neuerdings Lundegardh die Exkretionstheorie vertreten.

Ganz neutral kann man sicher behaupten, daß der Nukleolus eine Sammelstelle für Stoffwechselprodukte ist. Die Widersprüche, die sich bei den einzelnen Forschungsergebnissen herausgestellt haben, lösen sich, wenn man berücksichtigt, daß der Organismus regulationsfähig ist. Und so wird der Nukleolus das eine Mal mehr als Reservestoffbehälter, das andere Mal mehr als Exkretbehälter funktionieren.

Vergleichende Tabelle über die Größe der Kerne und Nukleolen.

	I. Durchlaßzellen nicht inf.		I. Durchlaßzellen infiziert		II. Rindenzellen nicht infiziert		III. Rindenzellen mit Pilzschlingen ohne Arb. u. Sp.	
	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
Kern	6,2	5,0	5,8	4.8	5,1	3,9	5,6	4,9
Nukleolus .	1,6		1,5		1,3		1,4	

	IV. Rindenzellen mit Arbuskeln und Plasmoptyse		V. Rindenzellen mit jungen Sporangiolen		VI. Rindenzellen mit Sporangiolen-Endstadium	
	Länge	Breite	Länge	Breite	Länge	Breite
Kern	8,3	6,6	6,1	5,8	6,1	5,3
Nukleolus .	2,7		2,9		1,2	

Die Zahlenwerte sind in μ ausgedrückt. Es wurden immer 7 beliebige Kerne aus den entsprechenden Zellen herausgegriffen und das Mittel berechnet (ausgenommen die Kerne der infizierten Durchlaßzellen von Rubrik I; hier konnte ich in meinen sämtlichen Präparaten nur 4 Zellen finden, wo sich der Kern einwandfrei beobachten ließ). Die Beobachtungen und Messungen wurden mit Ausnahme der letzten Rubrik alle an ein und derselben Pflanze vorgenommen, um etwaige Variationsmöglichkeiten in der Kerngröße bei Pflanzen verschiedener Standorte gänzlich auszuschalten. Als Material für Rubrik I—V diente Vinca minor von Ruine Heimenhofen (Allgäu), fixiert im April 1922; für Rubrik VI Vinca minor aus dem Nymphenburger Park vom Oktober 1921.

Was läßt sich nun aus seinem Verhalten bei der Plasmoptysen-Mykorrhiza schließen?

S. 419 habe ich von einer Giftwirkung beim Platzen der Arbuskeln gesprochen. Die Unschädlichmachung und Verarbeitung des

eingedrungenen fremden Protoplasten hat einen enormen Stoffwechsel in der Zelle zur Folge. Der Kern vergrößert sich um ein Drittel seines früheren Wertes und der Nukleolus um mehr als die Hälfte. Die Hypertrophie des Zellkerns sowie die Hyperchromatie kann man mit der Giftwirkung des eingedrungenen fremden Protoplasten in Beziehung setzen (Rubrik IV). Dafür sprechen auch analoge Erscheinungen bei anderen Objekten, z. B. die Kernhypertrophien, die durch das giftige Speichelsekret saugender Blattläuse verursacht werden [Zweigelt (51, S. 309)]. Wichtig ist, daß die Hypertrophie im selben Moment zurückgeht, wo die Wirkung des Giftes paralysiert ist, also bei unserer Mykorrhiza in den Zellen mit beginnender Sporangiolenbildung (Rubrik V).

Der Nukleolus hat während dieser Zeit hauptsächlich die Rolle eines Exkretbehälters gespielt; von einer bedeutsamen Anhäufung von Reservestoffen während dieser Periode der Abwehr kann sicher nicht die Rede sein. Nun nimmt er aber noch weiterhin an Größe zu, während die Ausmaße des Gesamtkerns schon wieder im Schwinden begriffen sind (Rubrik V). Jetzt erst, wo der eingedrungene Pilzprotoplast unschädlich gemacht ist, kann vielleicht von einer Verwertung der injizierten Pilzmasse gesprochen werden. Die weitere Steigerung der Nukleolusgröße aber von jetzt an bis zu dem Augenblick, wo bereits die ersten Sporangiolen hervortreten, deutet darauf hin, daß der Nukleolus während dieser „Assimilationstätigkeit" nun hauptsächlich als Reservestoffbehälter funktioniert. Sobald nämlich dieser Prozeß, der von den früheren Autoren als Verdauung bezeichnet wurde, völlig eingestellt ist (Sporangiolenendstadium, Rubrik VI), wird der Nukleolus sofort wieder auf sein früheres Ausmaß reduziert. Die Stoffe, die in ihm aufgehäuft waren, sind nun abgeführt.

Experimentelle Untersuchungen auch anderer Objekte mit dem Zweck, Kern und Nukleolus durch entsprechende Ernährung der Wurzeln (Preßsaft des isolierten Wurzelpilzes u. a. m.) zu beeinflussen, sollen in der Zukunft angestellt werden. Es besteht Aussicht, dadurch nicht bloß ein klareres Bild über den Wert der Mykorrhiza zu gewinnen, sondern auch ein Licht auf die Tätigkeit des Zellkerns und des Nukleolus zu werfen.

Nachträglich kommt mir eine Mitteilung von A. Maige (27) in die Hände, der sich bereits eine ähnliche Frage gestellt hat. Leider sind die angeführten Versuche zu ungenügend, um wichtigere Schlüsse daraus ziehen zu können. Er verwendet Embryonen und Stücke isolierter Sprosse und behandelt sie mit Saccharoselösungen

bestimmter Konzentration verschieden lange Zeit. Für die Analogie mit unserer Mykorrhiza ist es von Interesse, daß dadurch eine bedeutende Vergrößerung des Kerns und des Nukleolus erreicht wird, und zwar ist diese Erscheinung auch hier beim Nukleolus ausgesprochener als beim übrigen Kern. Mit steigender Konzentration steigt auch die Größe von Kern und Nukleolus. Genauere Angaben über die Wirkung anderer organischer Substanzen stehen leider noch aus. Jedenfalls läßt sich aber auch auf Grund dieser wenigen Versuche annehmen, daß der Nukleolus in der Hauptsache als Reservestoffspeicher aufzufassen ist.

V. Pilz und Wurzelwachstum.

Es schien auch von Interesse, zu wissen, wann bei Vinca minor das Hauptwurzelwachstum einsetzt, ferner, ob gewisse Beziehungen bestehen zwischen Pilz und Wurzelwachstum. Meine Untersuchungen darüber haben aber nur einen vorläufigen und mehr orientierenden Charakter, da es mir aus äußeren Gründen zunächst nicht möglich war, eine größere Versuchsreihe anzustellen.

Zum ersten Punkt sei bemerkt, daß das Haupt-Wurzelwachstum in den Monaten April—Mai vor sich geht, etwas später setzt dann reichliche Ausläuferbildung ein, die Ende Juni langsam abflaut. Während dieser Zeit bilden Vinca-Stecklinge, die in Wasserkultur oder feuchtem Sand gehalten werden (zu sterilen Zwecken), auch sehr willig Adventivwurzeln.

Schon bei Beobachtung der Vincawurzeln für eben erwähnten Zweck war aufgefallen, daß manche Wurzeln im Wurzelkasten plötzlich nicht mehr der Glaswand entlang wuchsen, sondern ihre Richtung horizontal veränderten, in einem mehr oder weniger großen Winkel zur annähernd vertikalen Glaswand. Meist waren sie dann auch später nicht mehr aufzufinden.

Dies veranlaßte mich, nebeneinander infizierte und nicht infizierte Pflanzen unter sonst gleichen Bedingungen zu untersuchen.

Für den Versuch ohne Mykorrhiza wurden zwei Pflanzen aus steriler Wasserkultur verwendet, deren Hauptwurzel bereits kleine Seitenwurzeln 1. Ordnung gebildet hatten. Für den Parallelversuch mit Mykorrhiza entnahm ich zwei Pflanzen dem Standort im Nymphenburger Park, was sich aber als unzweckmäßig erwies.

Die Böden für beide Versuche bestanden aus Nymphenburger Erde und wurden vorher bei $1^1/_2$ atm. Druck 30 Minuten sterilisiert. Der Boden für den Versuch mit Mykorrhiza mußte auch sterilisiert

werden, damit in beiden Fällen annähernd die gleichen Bedingungen herrschen, besonders was die Aufschließung des Bodens durch das Sterilisieren betrifft. Nur gab ich für den Versuch mit nicht sterilen Pflanzen dem bereits sterilisierten Boden noch 5 % infizierte Standortserde sowie 1% zerhackte Vincawurzeln zu, also nur so viel, daß die Qualität der beiden Böden doch ungefähr die gleiche blieb. Angesetzt wurde der Versuch im Südhaus des Instituts am 26. April 1922. Jeden Morgen wurde mit abgekochtem Wasser gegossen, und am 8. Mai mit Markieren begonnen, von da an wurde jeden dritten Tag markiert.

Die beiden infizierten Pflanzen machten bald Schwierigkeiten, wuchsen sehr schlecht und gaben Anzeichen des Verwelkens. Ich nahm sie heraus und fand, daß die Wurzelspitzen bräunlich verfärbt waren. Daß aber nicht der Pilz infolge der durch die Bodenaufschließung erhöhten Virulenz die Ursache war, zeigten Mikrotomschnitte. Der Grund wird jedenfalls in anderweitigen, nicht kontrollierbaren Ernährungsstörungen zu suchen sein.

Als Ersatz dafür nahm ich zwei Pflanzen aus einer gewöhnlichen Wasserkultur, die an Größe und Ausmaß des Wurzelsystems die beiden anderen sterilen sogar übertrafen, sterilisierte den bereits verwendeten Boden nochmals, um diesmal 10% infizierte Standortserde beizugeben (26. Mai 1922). So glaube ich auch den Vorsprung der beiden sterilen Pflanzen, was Gesamtentwicklung anlangt, wettgemacht zu haben, außerdem standen nur mehr Pflanzen zur Beobachtung, die beide schon längere Zeit in Wasserkultur gestanden hatten, was auch einen besseren Vergleich erlaubt.

Das Resultat der Messungen, die sich bis in den Juli hinein erstreckten, sei kurz im folgenden angegeben.

Versuch I ohne Mykorrhiza in pilzfreiem Boden.

Die Wachstumsdauer der Hauptwurzel kann nicht zum Vergleich mit jener von Versuch II herangezogen werden, da sie mit einem anfänglichen Tageszuwachs von 5,3—6,2 mm, der allmählich auf 2,5 mm zurückging, bald am Grunde des 30 cm hohen Wurzelkastens angelangt war.

Bei den Seitenwurzeln 1. Ordnung ist das Zuwachsmaximum mit ca. 3,5 mm täglich ganz deutlich an den Anfang der Wachstumsperiode gerückt, fällt nach dem 9. Tage auf 1,1 mm, um nochmals nach weiteren 9 Tagen ein zweites Maximum von 2,2 mm zu

verzeichnen; von da an nach 21 Tagen wird das Wachstum überhaupt eingestellt.

Versuch II mit Mykorrhiza in infiziertem Boden.

Das Zuwachsmaximum der Hauptwurzel ist hier mit 9 mm täglich (nach dem 9. Tag) durchaus an den Anfang gestellt, dann tritt rapides Fallen ein, und nach darauffolgenden 12 Tagen wird das Wachstum vollständig eingestellt.

Bei Beobachtung der Seitenwurzeln machte sich das bereits erwähnte, Richtung ändernde Wachstum sehr unangenehm bemerkbar. Nur in wenigen Fällen konnte ich eine kontinuierliche Beobachtung anstellen. Das Maximum ist auch hier mehr an den Anfang verschoben, aber mit 4 mm täglich, um dann ebenso rasch zu sinken, bis nach 15 Tagen kein Wachstum mehr zu verzeichnen ist.

Also beträgt die Gesamtwachstumsdauer der Seitenwurzeln ca. 15 Tage im infizierten Boden im Gegensatz zu 39 Tagen im pilzfreien Boden!

Inzwischen hatten die beiden Pflanzen von Versuch I zahlreiche Ausläufer gebildet, die gerade anfingen, sich zu bewurzeln. Einen davon nahm ich heraus und setzte ihn in den Wurzelkasten mit infizierter Erde, um ihn mit den Sterilen zu vergleichen. Als neues Ergebnis, soweit man sich bei einem einzigen Versuch überhaupt darauf stützen darf, zeigte sich, daß der Ausläufer im pilzfreien Boden sich in vertikaler Richtung sehr kräftig entwickelte, während der Ausläufer im infizierten Boden sein Wurzelsystem mehr in horizontaler Richtung ausbreitete, indem unmittelbar unter der Bodenoberfläche sehr zahlreiche Seitenwurzeln 1. Ordnung entstanden. Diese begannen sofort ihrerseits wieder Seitenwurzeln 2. Ordnung zu bilden, während im ganzen Wurzelsystem des Ausläufers im pilzfreien Substrat keine einzige Seitenwurzel 2. Ordnung beobachtet werden konnte!

Kurz zusammengefaßt, darf man nach obigen Versuchen wenigstens vermuten, daß die Mykorrhizapilze bei Vinca letzten Endes eine wachstumhemmende Wirkung ausüben [1]). Sicher ist dies für solche Wurzeln, die unmittelbar hinter der Spitze infiziert werden. Hier können an Mikrotomschnitten keine Zellteilungen mehr beobachtet werden (s. Textfig. 1). In diesem Falle wird das Wurzel-

1) Vgl. auch Frank (16, S. 259), der an unverpilzten und verpilzten Saugwurzeln der Buche eine ähnliche Beobachtung macht, die er allerdings in anderem Sinne ausbeutet.

system durch dahinter entstehende Wurzeln 1. bzw. 2. Ordnung fortgesetzt, ohne daß sich die neue Wurzel gerade in die Richtung der alten einzustellen braucht. Daher rührt auch der eigenartige, oft sympodial anmutende Habitus infizierter Vincawurzeln im Vergleich zu nicht infizierten, die immer streng monopodial aufgebaut sind.

Das Gesamtbild, das die Wurzelsysteme der beiden Versuche im September zeigten, ist folgendes.

Bei Versuch I ist das ganze Erdreich sehr regelmäßig nach allen Richtungen in der Tiefe und in der Breite von den Wurzeln durchwachsen, so daß also kein Fleckchen übrigbleibt, das nicht von Wurzeln durchzogen wäre, besonders in den tieferen Schichten.

Bei Versuch II im verpilzten Boden ist die Verteilung sehr unregelmäßig und die Richtung, in der die einzelnen Wurzeln wachsen, gar nicht konstant. Während z. B. bei Versuch I auch die Seitenwurzeln 1. Ordnung in genügender Entfernung von der Hauptwurzel sich genau positiv geotropisch verhalten, halten die Seitenwurzeln 1. Ordnung hier keine bestimmte Richtung ein.

Im Substrat von Versuch II war der Pilz nicht gleichmäßig verteilt, die Pilzhyphen konnten mit einer guten Lupe unter der Glaswand beobachtet werden. Daß diese zum wahren Endophyten gehörten, kann daraus geschlossen werden, daß Stichproben aus diesem Revier stark verpilzte Wurzeln ergaben. Interessant ist, daß der Pilz sich nur innerhalb eines bestimmten Umkreises um die Wurzeln herum auffinden ließ, während da, wo noch keine Wurzeln waren, auch keine Hyphen zu entdecken waren. Dies läßt auf eine Abhängigkeit des Außenmyzels vom Wirte schließen.

Das Wurzelsystem war da, wo sich der Pilz befand, bedeutend schwächer ausgebildet als an anderen Stellen, wo man die Hyphen mit der Lupe nicht nachweisen konnte. Da aber immer nur ein bestimmter Prozentsatz von Wurzeln verpilzt ist, können die übriggebliebenen unverpilzten dennoch bis zu einem gewissen Grade auch die tieferen Erdschichten erreichen. Wenn nämlich sämtliche Wurzeln infiziert würden, könnten die Wurzeln sich überhaupt nicht vertikal ausbreiten; denn der Pilz hält sich, da er sauerstoffbedürftig ist (vgl. Burgeff (6), S. 41 und S. 438 der gegenwärtigen Arbeit), nur in den oberen Bodenschichten auf und würde so jedes Tieferdringen verhindern.

Schließlich hatten sich die oberirdischen Pflanzenteile der beiden Versuche allmählich, was Üppigkeit des Wachstums anlangt, recht unterschiedlich entwickelt.

Die beiden Exemplare von Versuch I ohne Mykorrhiza waren ungemein kräftig entwickelt, hatten zahlreiche Ausläufer gebildet, während die beiden infizierten Pflanzen im Vergleich dazu ziemlich kümmerlich aussahen und teilweise auch in der Ausbildung und Größe der Blattspreite hinter den anderen zurückblieben. Diese hatten bis 18. Aug. 1922 insgesamt nur 41 fertige Blattpaare ausgebildet, während bei jener 140 gezählt werden konnten. Taf. VII, Fig. 1 und 2 zeigt den Stand der Entwicklung am 1. Okt. 1922. Die beiden Bilder erlauben einen direkten Vergleich, da die beiden Versuchsobjekte mit dem gleichen Apparat in der gleichen Entfernung aufgenommen wurden. Die nicht infizierten Pflanzen taten sogar den Gefallen, im Herbst zu blühen. Nach der Theorie von Klebs und Goebel über Blütenbildung in ihrer Abhängigkeit vom Verhältnis der Assimilate zu den Nährsalzen könnte man vermuten, daß der Endophyt es der Wirtspflanze am natürlichen Standort nur einmal im Jahre erlaubt, zu blühen, indem er infolge seines großen Stärkeverbrauchs während der übrigen Zeit jenes Verhältnis zugunsten der Nährsalze verschiebt. Dagegen wäre aber zu erwägen, daß der Stärkevorrat von ungefähr einem Drittel des ganzen Wurzelsystems unangetastet bleibt, nachdem durchschnittlich nur zwei Drittel von allen Wurzeln verpilzt sind.

Man wäre vielleicht versucht, auf Grund dieser Ergebnisse allgemein zu behaupten, die Mykorrhiza sei bei Vinca wirklich bloß reiner Parasitismus. Doch ist Vorsicht am Platze, besonders wenn man die Ausführungen Stahls (38) und Wiesners (45) über den Lichtgenuß berücksichtigt. Danach kann eine Pflanze wohl besser ohne Mykorrhiza gedeihen, wenn ihr Lichtgenußminimum höher geschraubt wird. Somit würde nur in diesem speziellen Falle die Mykorrhiza überflüssig und damit auch schädlich. Nun hatten die Versuchspflanzen in der Tat ein höheres Lichtgenußminimum, als es ihnen in der freien Natur dargeboten ist, so daß die Stahlsche Nährsalztheorie sich wohl auch mit diesem Ergebnis vereinbaren ließe, wenn nicht die geringe Anzahl der Pilzverbindungen nach außen gegen eine reichlichere Nährsalzzufuhr vermittelst der Pilzhyphen selbst zu sprechen schiene. Doch darüber im folgenden Kapitel.

VI. Die Verteilung des Endophyten innerhalb der Wirtspflanze und die Frage der Stoffleitung mittelst der Kommunikationshyphen.

Bei der Frage nach Vor- und Nachteil bzw. Wertlosigkeit der Verpilzung spielt auch die Verteilung des Pilzes innerhalb der Wirts-

pflanze sowie die Zahl der Verbindungen des Außenmyzels mit dem Innenmyzel eine gewichtige Rolle.

Im April 1922 habe ich eine junge, aus einem Ausläufer entstandene Vinca minor daraufhin untersucht und sämtliche Wurzelspitzen mit dem Mikrotom geschnitten. Das ganze Wurzelsystem insgesamt zu untersuchen hielt ich nicht für notwendig, da sich die aktive Mykorrhiza auf die jüngeren Wurzelteile beschränkt. Es ergab sich folgendes:

Zahl der vorhandenen Wurzelspitzen 46.

Gesamtlänge der untersuchten Wurzelspitzen 151,54 mm.

Grad der Verpilzung				
	unverpilzt	schwach	mittel	stark
Anzahl der Wurzeln	13	8	4	21

Verbindungen mit dem Außenmycel		Zahl der Vesikeln
Frische Infektionsstellen	Alte Infektions- und Auswanderungsstellen	
16	163	64

Die Anzahl der Außenverbindungen verteilt sich auf die erwähnten drei Gruppen der verpilzten Wurzeln wie folgt:

	Schwach	mittel	stark
Frische Infekt.	15	0	1
Alte Infekt. und Auswanderungsstellen	11	8	112

Es treffen also auf die Gesamtlänge aller untersuchten Wurzelspitzen von zusammen rund 152 mm 179 Verbindungen nach außen, somit auf je 0,84 mm eine einzige Kommunikationshyphe, ferner auf je 11,62 mm eine einzige frische Infektionsstelle.

Unter Ausschaltung der nicht verpilzten 13 Wurzeln ergeben sich natürlich andere Zahlenwerte, so daß bei einer Gesamtlänge der verpilzten Wurzeln von rund 121 mm auf je 0,67 mm Wurzellänge eine Verbindung des Endophyten mit dem Außenmyzel trifft,

Die Frage nach der Stoffleitung durch den Pilz ist auch bei allen früheren Mykorrhizenforschern eine der brennendsten gewesen, und sie ist es auch heute noch. Leider muß ich verzichten, auf die

Literatur hier weiter einzugehen, und verweise auf Burgeff (4, S. 184—202), der sie hier im Zusammenhang mit der Frage nach den stofflichen Beziehungen der beiden Komponenten eingehend behandelt.

Auf Grund der bereits im vorausgehenden geschilderten anatomisch-morphologischen Untersuchungen kann ich in unserem Falle **keinen** großen Vorteil für die Wirtspflanze erkennen, schon deswegen nicht, weil die Anzahl der Kommunikationshyphen im Vergleich zu den intakten Wurzelhaaren eine verschwindend geringe ist. Und warum soll denn immer nur die höhere Pflanze einen Vorteil aus diesen Verbindungen ziehen und der außerhalb der Wurzel lebende Pilz nicht? Mit demselben Recht kann man auch die Frage stellen, welchen Vorteil hat das Bodenmyzel durch seine Verbindungen mit dem Endophyten? Zur Klärung dieser Frage bleibt nur ein Weg, nämlich den Pilz zusammen mit der Wirtspflanze rein zu kultivieren und dabei möglichst die natürlichen Bedingungen, wie am Standort, obwalten zu lassen. Damit könnte ein ganz bedeutender Fortschritt in der Kenntnis der Mykorrhiza erzielt werden.

Das einzige, was Aussicht bot, ein wenig Einblick in die Stoffleitung durch die Kommunikationshyphen zu gewähren, schien die Behandlung der infizierten und nicht infizierten Wurzeln mit verschiedenen Farblösungen, wofür Individuen von Vinca minor verwendet wurden.

Mit Methylenblau 1 : 500 000 ergab sich nach 24 Stunden eine starke Blaufärbung der Epidermis und Durchlaßzellen, mancher intrazellulärer Hyphenschlingen, wo das Blau mitunter in Grün umschlug, sowie vereinzelter Sporangiolen. Eine Färbung interzellulärer Hyphen trat nicht auf.

Mit Methylviolett 1 : 250 000 zeigte sich nur Färbung der Epidermis und Durchlaßzellen, jedoch nicht aller; sonst kein weiteres Eindringen, auch nach 24 Stunden nicht, teilweise schien Plasmolyse eingetreten zu sein.

Nun stellte ich die Wurzeln in 1%ige Kalisalpeterlösung; es zeigte sich keine Spur einer Blaufärbung mit Diphenylamin-Schwefelsäure. Es lag die Vermutung nahe, daß vielleicht verpilzte Pflanzen die Reaktion nicht zeigen, wohl aber unverpilzte. Doch ergaben auch diese nach 48 Stunden keinerlei Reaktion auf Salpeter. Für reichliche Transpiration war auch bei diesem und dem nächsten Versuch dadurch gesorgt worden, daß die Versuchspflanzen in die Sonne an ein Südfenster des Instituts gestellt wurden.

Schließlich benützte ich das Verfahren, das Bierberg (3) zum Studium der Protoplasmaströmung verwendet hat, auch für unsere Zwecke. Er ließ die Versuchspflanzen Natriumchlorid aufnehmen und fällte dann durch Zugabe einer Thalliumsulfatlösung in den Zellen unlösliches Thallochlorid als leicht sichtbare Kristalle aus.

Das Natriumchlorid wurde von den Wurzeln leicht aufgenommen. Zuerst traten die Thallochloridkristalle in der Wurzelhaube auf, dann ziemlich regelmäßig in dem Zentralzylinder und nach 10 Minuten langer Einwirkung des Thallosulfats begann auch die Ausfällung in den Rindenzellen einzusetzen. In den untersuchten Wurzeln befanden sich auch zwei deutlich sichtbare Infektionsstellen bzw. Verbindungen nach außen. Hier konnte ich in der Tat eine größere Ansammlung von Thallochloridkristallen beobachten, die sich sonst nur vereinzelt in der unmittelbar an die Exodermis grenzenden Zellschicht finden ließen, ohne eine weitere Beziehung zu den Durchlaßzellen.

Jedenfalls scheint auch nach diesen Versuchen der Stoffleitung durch die Kommunikationshyphen eine wesentliche Bedeutung nicht zuzukommen, wenn sie auch als solche nicht von der Hand zu weisen ist.

VII. Die Isolierung des Wurzelpilzes (Technik).

Schon bei den ersten Versuchen, den Wurzelpilz zu isolieren, stellte sich die Notwendigkeit heraus, einen Nährboden zu verwenden, der noch nährstoffärmer ist als der von Burgeff (5, S. 12) zur Gewinnung der Orchideenpilze angegebene. Es wurde also auch auf die mineralische Nährlösung verzichtet, und an ihrer Stelle gewöhnliches Leitungswasser mit 1,5 % Agar verwendet. Eine Spur Stärke erwies sich ebenfalls als notwendig, ungefähr $^1/_{20}$ % (keinesfalls mehr, eher noch weniger, da sonst die Bakterien zu gut wachsen).

Die Methode ist mit einigen Modifikationen dieselbe, die Burgeff (7, S. 14—16) für die Isolierung der Orchideenpilze vorschreibt, weshalb ich nicht genauer darauf eingehe.

Bemerkt sei aber, daß man das zur Isolierung ausgesuchte Wurzelstück zweckmäßigerweise abwechselnd mit der Pinzette von einem Tropfen sterilen Wassers in den anderen bringt und dabei jedesmal tüchtig herumschwenkt. Vom sechsten Wassertropfen heraus kommt der Schnitt auf den bereits erwähnten Nährboden, der in geringer Dicke auf einer Petrischale ausgegossen ist. Das Hindurchführen durch die sechs Wassertropfen hat sich als sehr günstig für

die Freihaltung von allerhand unerwünschten Keimen erwiesen; man wird dabei zweckmäßigerweise die Pinzette jedesmal wieder abflammen, wobei sie so heiß werden darf, daß der Wassertropfen, in den die Pinzette beim Herausnehmen der Wurzel getaucht werden muß, dabei hinwegdunstet.

Auf die Agarschicht gebracht, wird die Wurzel an beliebigen Stellen behufs letzter Reinigung mit der Platinnadel ein paarmal in die Schicht hineingestoßen und wieder herausgezogen, schließlich an einem weiter davon entfernten Platz ganz durch den Agar hindurchgestoßen und auf dem Boden der Schale noch ein Stück entlang geschoben, wo sie dann endgültig belassen wird, um wenigstens die Entwicklung aërober Bakterien möglichst hintanzuhalten. Auf diese Art und Weise gelang mitunter, Wurzelstücke vollständig keimfrei in den Agar zu bringen.

Die Platte, die gut noch weitere drei Schnitte aufnehmen kann, wird bei Zimmertemperatur aufgehoben und nach Verlauf von 48 Stunden erstmalig auf das Auswachsen des Wurzelpilzes kontrolliert, indem man sie, umgekehrt auf den Objekttisch des Mikroskops gelegt, bei schwächerer Vergrößerung betrachtet.

VIII. Der isolierte Wurzelpilz und seine Ernährungsphysiologie.

Bevor ich auf meine eigenen Resultate eingehe, sei kurz besprochen, was in den letzten Jahren an Wurzelpilzen isoliert worden ist. Die rein ektotrophe Mykorrhiza lasse ich beiseite.

Rayner (33) isolierte aus Calluna vulgaris einen Pilz, den er dem Genus Phoma beigesellt und Phyllophoma benennt. Die Synthese ist positiv ausgefallen. Dagegen steht eine andere Angabe von Christoph (9), der aus Calluna vulgaris ein Cephalosporium erhalten hat und damit ebenfalls die Synthese ausgeführt haben will. Magrou (26) hat die Angaben von Noël Bernard (2) über den Pilz von Solanum Dulcamara nachgeprüft und bestätigt, wobei er der isolierten Mucorinee einen neuen Namen gibt (Mucor Solani). Ich fürchte aber, daß er bei der Synthese keine wirklich sterilen Pflanzen vor sich gehabt hat, außerdem muß man mit Schimmelpilzen als Mykorrhizabildnern nach berühmtem Muster äußerst vorsichtig sein.

Rexhausen (34) macht keine weitere Angabe über die Art des von ihm aus Monotropa gewonnenen Pilzes (Synthese fehlt ebenfalls). Ridler (35) stellt einen aus Pellia epiphylla isolierten Pilz auch zur Gattung Phoma, die Synthese war ihm mangels steriler

Pflanzen unmöglich. Huber (19) hat aus Liparis Loeselii eine Rhizoctonia repens erhalten.

Es wurden vom November 1921 bis August 1922 insgesamt 112 Isolierungsversuche gemacht, die allerersten nicht mitgerechnet, bei denen an ein Auswachsen des Pilzes infolge mangelnder Technik noch nicht gedacht werden konnte.

Ich verwendete Vinca minor in der Hauptsache von drei verschiedenen Standorten: einer befindet sich im Nymphenburger Park Ost, der andere in West, der dritte im bayerischen Allgäu an der Ruine Heimenhofen bei Burgberg.

Von den drei genannten Standorten erhielt ich 11 mal ein und denselben Pilz, der weiter unten genauer beschrieben werden soll, also in rund 10 % von allen Isolierungsversuchen! Was sich sonst noch alles einstellte, sei der Vollständigkeit halber ebenfalls erwähnt, nur verzichte ich darauf, die Penicilliumrasen aufzuzählen, von denen es ein Wunder wäre, wenn sie sich nicht eingefunden hätten.

Zweimal bekam ich einen Pilz, der dunkelbraun gefärbt ist, dicht wächst und 2 % Rohrzuckeragar faltig zusammenzieht. Bald aber treten Hemmungserscheinungen auf und an den Hyphen entstehen terminale, blasenförmige Anschwellungen, die in ihrem Aussehen und ihrer Größe auffallend den Vesikeln gleichen. Nach Umlauf von 4 Monaten stellt sich am alten Kulturrand erneutes Wachstum ein, die Hyphen sind viel heller gefärbt und bilden makroskopisch sichtbare baumartige Verästelungen, um aber bald das Wachstum endgültig einzustellen. Dies erinnert in manchem an den ersterwähnten Pilz, wie aus der später folgenden Schilderung zu entnehmen sein wird. Und so glaube ich, daß ein gewisser Pleomorphismus nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen ist.

Weiterhin stellte sich zweimal ein Pilz ein von bräunlich-grüner Farbe, der sich auf 2 % Rohrzuckeragar in kräftigen radialen Strähnen ausbreitet und reichlich monilienförmig abgegliederte Hyphen besitzt.

Auch ein braunrot gefärbter Pilz trat zweimal auf, der auf 2 % Rohrzuckeragar in zarten, feinen Strängen gleichmäßig nach allen Richtungen wächst, fast keine Konidien bildet und durch zahlreiche, meist perlschnurförmig aneinandergereihte, die ganze Hyphenbreite einnehmende Fettvakuolen gekennzeichnet ist.

Ferner fand ich noch ein auch nicht weiter bestimmtes Fusarium und einen Pyknidenpilz, der braune einzellige Sporen besitzt.

Um nun von vornherein eine durch eigene Erfahrung gewonnene Vorstellung davon zu haben, wie ein echter Endophyt aus einer Wurzel auswächst, isolierte ich die Wurzelpilze aus verschiedenen Orchideen unseres Gewächshauses (z. B. Vanda, Oncidium, Odontoglossum, Cynorchis, Phalaenopsis, Neobenthamia). Hier konnte ich mit ziemlicher Sicherheit auf das Auswachsen des echten Wurzelpilzes rechnen, und die Echtheit wurde durch die nachträgliche Synthese mit Orchideensamen bestätigt.

Schon die ersten Pilze, die nach Verlauf von 48 Stunden auszuwachsen begannen, vereinigten alle Anzeichen in sich, die für das Vorhandensein des echten Endophyten sprachen. In der Regel wächst zuerst eine einzige Hyphe, mit der Wurzelepidermis einen rechten Winkel bildend, in den Agar hinaus, der bald mehrere folgen, so daß sich die Hyphen zunächst büschelig von einem Punkt aus, etwa einer Durchlaßzelle, ausbreiten. Die ausgewachsenen Hyphen verzweigen sich weiterhin, wie das die schematische Zeichnung von Textfig. 4 dartut. Es tritt nämlich eine Differenzierung in Haupt- und Nebenhyphen ein. Mit dem Überimpfen auf einen neuen Nährboden wird gewartet, bis die junge Kultur ungefähr einen Durchmesser von 2 cm besitzt. Zweckmäßigerweise werden in den Fällen, wo man nicht unbedingt sicher ist, den Pilz in Reinkultur vor sich zu haben, die Hyphenspitzen nach der von Claussen angegebenen Methode der Stecklingsherstellung (8, S. 489) von hier wieder abgeimpft und auf einen neuen Nährboden übertragen. Das ersetzt die mühevollere Arbeit, sogenannte Einspormyzelien herzustellen.

Der Boden, auf den ich zuerst überimpfte, war Pflaumenagar und 1 % Stärkeagar. Nach ungefähr 14 Tagen (seit der Isolierung) wurde aus dem schon etwas sklerotisch werdenden Pilzmyzel ein Stück herausgeschnitten, und die mikroskopische Untersuchung ergab ein Bild, über das man nicht weniger erstaunt als angenehm überrascht sein konnte. Es lag ein Pilz vor, der, von der Hyphendicke abgesehen, so sehr an einen typischen Orchideenpilz erinnerte, daß man nur in den beiden mikrophotographischen Tafeln, die Burgeff seiner Arbeit (4) beigegeben hat, nachzusehen brauchte, um zu entscheiden, welchem von diesen Orchideenpilzen der neue Pilz am ähnlichsten ist. So ergab sich die größte äußerliche Übereinstimmung mit dem Pilz auf Taf. 2, Fig. 15, die ein Sporenhäufchen aus einer 14 Tage alten Kultur des Cattleya-Pilzes darstellt.

Aus dem Verzweigungsmodus, der Gliederung der Hyphen in Lang- und Kurzhyphen sowie dem Zerfall der letzteren in Konidien, die hefeartig sprossen (s. Textfig. 5), geht hervor, daß wir einen Pilz vor uns haben, der ohne Bedenken zu der Gattung Rhizoctonia gestellt werden darf. Später können sich auch die Hauptphyphen monilienartig abgliedern (s. Mikrophotogramm Taf. VII, Fig. 3), und man bekommt dann deutlich zu sehen, daß alle Übergänge vorhanden sind von kugeligen bis zu langen biskuitförmigen Konidien. Die Einschlüsse, die im Protoplasma zu sehen sind, bestehen aus Öl.

Die Zytologie des Myzels ist ziemlich einfach. Jede Zelle der durch Querwände abgeteilten Hyphen besitzt nur einen einzigen Kern, soweit dies an mit Juelschem Gemisch fixierten und mit Heidenhains Hämatoxylin gefärbten Präparaten ersehen werden kann. In den Konidien sind die Kerne deutlicher zu beobachten; sie nehmen bis zu zwei Drittel des Zellraumes ein und besitzen einen einzigen Nukleolus. Außerdem lassen sich auch fädige, vom Kern in das Plasma ausstrahlende, mit Hämatoxylin stark gefärbte Gebilde erkennen. An wichtigeren Inhaltskörpern findet sich hauptsächlich Öl. Ferner fallen zahlreiche kleine, mit Hämatoxylin tief gebläute Kügelchen auf, die sich in der Regel auf das periphere Plasma verteilen und wohl als Volutinkörperchen aufgefaßt werden dürfen.

Fig. 4. Verzweigungsschema des Vinca-Pilzes (kultiviert auf 1% Rohrzuckeragar). *h* Haupt-, *n* Nebenhyphen.

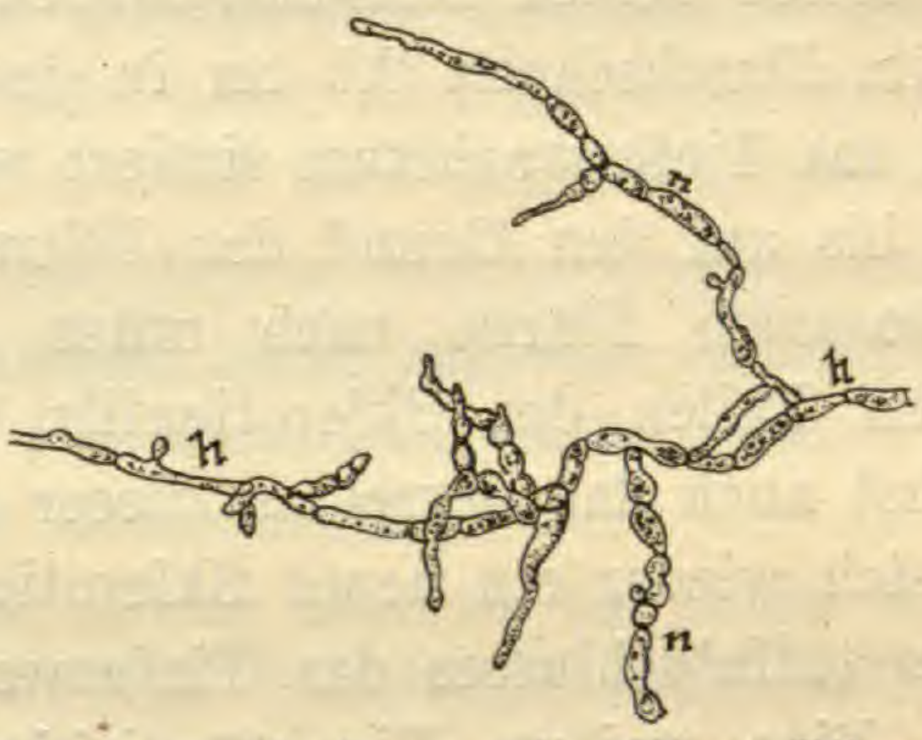


Fig. 5. Gliederung des Vinca-Pilzes in Haupt- (*h*) und Nebenhyphen (*n*). Zerfall derselben in Konidien, die hefeartig sprossen (auf 1% Sacharoseagar). Vergr. 148mal.

Wenn dieser Pilz auch, wie aus der beigegebenen Tabelle ersichtlich ist, die Orchideenpilze an Variabilität weit übertrifft, an ihre Wachstumsgeschwindigkeit jedoch nicht heranreicht, so möchte ich ihn dennoch zur Gattung Rhizoctonia stellen. Die Beschreibung in Saccardos Sylloge Fungorum (36, S. 1175—1176) paßt so gut und so schlecht auf den Vinca-Pilz wie auf die Orchideenpilze. Jedenfalls kann er zunächst kaum wo anders besser untergebracht werden. So sei es mir gestattet, dem in der Tabelle genauer beschriebenen, aus Vinca minor gezüchteten Pilz vorläufig den Namen „Rhizoctonia Apocynacearum" zu geben[1]). Fruchtkörper wurden bis jetzt auf keinem der verwendeten Böden erhalten.

1) Unter dem Namen „Apocynacearum" möchte ich die Asclepiadeae auch miteingeschlossen haben (s. Demeter 10, S. 175), da ich ja den gleichen Pilz auch aus Vincetoxicum erhalten habe.

Die in der Tabelle verwendeten Nährböden waren nicht neutralisiert. Dies wurde nur dann gemacht, wenn es sich um Herstellung von Stammkulturen handelte (1 % Stärkeagar schief erstarrt in Röhren).

Auf geringe Schwankungen im Prozentgehalt der organischen Beimengungen reagiert der Pilz, was den äußeren Habitus anlangt, mitunter ziemlich stark. Röhrchenkulturen mit 1%, 0,5% und 0,1 % Stärkeagar (mit $CaCO_3$ neutralisiert) zeigen beispielsweise in der Ausbildung von Sklerotien ein unterschiedliches Verhalten. Bei 1% und 0,5% Stärke werden noch reichlich Sklerotien gebildet, bei 0,1 % dagegen bleibt die Sklerotienbildung vollständig aus. Dabei zeigt sich auch das starke Sauerstoffbedürfnis des Wurzelpilzes. Auf den ersten beiden Konzentrationen dringt das Pilzmyzel kaum mehr als im Durchschnitt 0,5 cm in den schräg erstarrten Agar ein, worauf das Tiefenwachstum sistiert wird, während es bei 0,1 % Stärke fast bis auf den Grund der Röhre hinabwächst und dort mit einer horizontalen Fläche nach unten abschließt. Wird in den ersten beiden Fällen der Sklerotienfilz mit der Platinnadel entfernt, so wächst auch das Myzel an dieser Stelle wieder weiter in die Tiefe, bis sich wieder ein neuer Sklerotienfilz gebildet hat und infolge des Sauerstoffabschlusses das Tiefenwachstum wieder eingestellt wird.

Eine weitere Eigentümlichkeit des Pilzes soll an Hand der Photographie auf der beigefügten Tafel (Fig. 4) erläutert werden. Es betrifft die Degeneration des Wurzelpilzes auf künstlichem Substrat. Es tritt dann die Erscheinung auf, daß die Hyphen nicht immer gleichmäßig am Rand des alten Agarstückes auswachsen, sondern immer nur an den vom Zentrum am weitesten entfernten Stellen, also in dem auf unserer Photographie festgehaltenen Fall an den vier Ecken des übertragenen alten Agarstückchens. Von hier strahlen dann die Hyphen dendritenförmig aus, mitunter auch direkt pinienförmig, indem vorn das Weiterwachstum in die Länge eingestellt wird und sich immer neue Hyphen seitlich einschalten, denen das Weiterwachsen aber auch nicht gelingt. Am Rand der Kultur treten Hemmungserscheinungen auf, indem die älteren Hyphen in Konidien umgewandelt werden und andere an ihre Stelle treten, die aber ihrerseits auch wieder in Konidien zerfallen dank der angehäuften Stoffwechselprodukte. Dieses Spiel geht so lange weiter, bis der Kulturrand am Ende der baumförmigen Verästelungen knotig verdickt wird, so daß diese etwas länglich gestreckten Knötchen schließlich über die Agaroberfläche hervorragen. Diese machen ganz

genau den Eindruck, als ob hier der Kulturrand von Bakterien infiziert wäre. Es ist damit auch zunächst ein Wachstumsstillstand eingetreten, der aber nur scheinbar ist und ungefähr einen Monat dauert. Dann sieht man, daß bald vom alten Myzel ganz gleichmäßig neue Hyphen ausstrahlen, die ungemein zart und dünn sind, dicht zusammenschließen und als Miniaturausgabe des früheren normalen Myzels bezeichnet werden können. Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß die Hyphen aus Konidien des degenerierten Myzels, das sein Wachstum eingestellt hatte, ausgekeimt sind. Das Wachstum dieser Miniaturhyphen dauert so lange an, bis der Agar deutliche Zeichen des Austrocknens erkennen läßt, mitunter tritt dann am Rand des sekundären Myzels ein von weißen Lufthyphen gebildeter Saum auf. Noack (33) hat bei Thermoascus aurantiacus dieselbe Beobachtung gemacht. Bei einer nahe unter dem Minimum normalen Wachstums liegenden Temperatur entsteht hier in der Peripherie der Kolonie ein kleiner Zuwachs, der aus abnorm dünnen Hyphen besteht.

Daß diese „sekundären" Myzelien keine zufällige Infektion des Wurzelpilzes durch einen anderen Pilz darstellen, dafür spricht:

1. Die mikroskopische Untersuchung.
2. Die Kulturmethode, indem nämlich die schon einmal erwähnte Claussensche Stecklingsherstellung ausgeführt wurde.
3. Die Tatsache, daß diese Erscheinung nicht bloß an einem einzigen, sondern auch an anderen der zu verschiedenen Zeiten isolierten Wurzelpilze aufgetreten ist.
4. Der Umstand, daß auch der aus Vincetoxicum isolierte Pilz sich so verhält.
5. Der sicherste Beweis aber ist der, daß Impfstückchen aus diesem „Tochtermyzel", wieder auf frischen Agar gebracht, ein normales Wachstum zeigen mit denselben charakteristischen Erscheinungen, die der normale Pilz vorher auf den entsprechenden Böden zeigte.

Was ist nun die Erklärung dieses eigenartigen Verhaltens? Jedenfalls hängt es in der Hauptsache mit dem zunehmenden Austrocknen des Agars zusammen, wenigstens hinsichtlich der Bildung des Tochtermyzels. Das Auswachsen des sekundären Myzels wird eben dadurch ermöglicht, daß die zunehmende Trockenheit des Nährbodens auch die Diffusion der hemmenden Stoffwechselprodukte unterbindet, oder daß die Hemmungsstoffe möglicherweise nur dann wirksam bleiben, wenn sie in einer Lösung ganz bestimmter Konzentration

Tabelle zur Ernährungsphysiologie

	Nährboden	I. Myzelfarbe	II. Wuchsform makroskopisch*	III. Maxim. Hyphendicke
1.	Dextrose 1%	milchweiß	↓	3
2.	Dextrose 3%	rahmartig	○✱ später ○f	3,5
3.	Lävulose 1%	gelblich	○✱	4
4.	Galaktose 1%	milchig	○✱	3
5.	Maltose 1%	weißlich	↓	2
6.	Saccharose 1%	milchig	↓	3
7.	Saccharose 2%	„	≈✱	3,5
8.	Saccharose 3%	rahmartig	○✱ später ○f	4,5
9.	Stärke 1%	weißlich	○(f)	4,5
10.	Stärke 2%	„	○(f)	4,5
11.	Dextrin 1%, Knop ½ n	gelblich	○✱	3
12.	Kakaobutter 1%	milchweiß	○f	3
13.	Weinsaur. Kalk 0,5%	„	○	3,5
14.	Asparagin 1%, Saccharose 1%	milchig	≈✱	3
15.	Ammonzitrat 0,5%, Dextrose 1%	etwas rosa	↓	2,5
16.	Glykokoll 0,2%, Dextrose 1%	bräunlich	○✱f	3
17.	Weinsaur. Ammon 0,5%, Dextrose 1%	gelblich	○✱	3,5
18.	Pepton 1%, Saccharose 1%	„	○f	4
19.	Ohne N	milchig	○	2,5
20.	Ohne N, Maltose 1%	etwas milchig	○	2
21.	Harnstoff 1%, Saccharose 1%	milchig	○✱	3,5
22.	Amygdalin 0,5%	„	○✱	3
23.	Äsculin 0,2%	„	≈✱	2,5
24.	Tannin 0,05%	weißgrau	○	3
25.	Bodenextrakt 50%	weißlichgelb	○	2

Wo nichts besonderes bemerkt ist, wurde als Nährlösung die von A. Meyer den Böden 1—13 wurde auf C-Quellen geprüft mit NH_4Cl als N-Quelle, mit den Zusammensetzung, wie Malz- und Pflaumenagar, gedeiht der Pilz ebenfalls recht

Erläuterung der Zeichen

Zu Rubrik II. ○ Gesamtkultur gleichmäßig rund, Rand scharf abgesetzt.
○ Gesamtkultur gleichmäßig rund, Rand unscharf, verlaufend.
✱ Haupthyphen strähnenartig von der Mitte ausstrahlend, f agarhaltig zusammenziehend.
≈ Kultur lappenförmig, gebuchtet.
↓ Kultur bäumchenförmig (dendriten- oder pinienförmig).
„ III. Maximale Dicke der Haupthyphen im Bereich der ersten Tochterhyphen in μ.

des Wurzelpilzes.

IV. Konidien und Sklerotien	V. Inhaltskörper	VI. Güte des Wachstums	VII. Geschwindigkeit des Wachstums	VIII. Reaktion des N.-bodens	IX. Weitere Bemerkungen
KKK	FF	+	0,5		
KKK	FF	+++	0,4		
KKK	F	+++ 24 L	0,8		
KKK	FF	+++	0,3		
KK	F Z	+	1,2		
K(K)	FF	+	0,8		
KKK	FF Z	++	0,7		Invertase vorhanden (mit Apiculatus-Hefe geprüft)
KKK S	FF	+++	0,4		
KKK s(S)	(F) Z	+++ 24 L	1,4		Mit Jod deutliche Erythrodextrinreaktion, Kulturzentrum farblos, weiß
KKK sS	F (Z)	++++ 24 L	1,5		
K(K)	F	+++ 24	1,3	schwach sauer	
KK s(S)	F Z	+(+)	0,7		
K s	Z	++(+) 24 (L)	1,4	schwach sauer	
KKK	F	++	1,0	sauer	
KKK	F	++	0,6	neutral	
KKK	FF	++(+)	0,6	neutral	
K	F Z	+++	1,3	neutral	
KKK S	F(F)	++++ 24 L	0,8	schwach sauer	
O!	F	+(+)	1,0		
O!	F	++ 24	0,9	schwach sauer	
K(K)	FF	+	0,5	„	
K s	F	+(+)	0,4		Deutlicher Geruch nach Bittermandelöl
KKK	FF	+	0,7		
KK	FF	+(+)	0,5		Braunfärbung des N.-Bodens auf ca. 1 cm Distanz
K (s)	FF Z	++ 24	1,4	schwach sauer	

eingeführte und von Burgeff (5) als MN bezeichnete Lösung verwendet. Mit Böden 14—21 auf Stickstoff. Agarkonzentration 1,5%. Auf Böden unbekannter gut, ebenso auf Gelatine, die er löst.

und weitere Bemerkungen:

Zu Rubrik IV. K schwache, KK mittelstarke, KKK sehr starke Konidienbildung. S Sklerotien in dichtem Filz, s Sklerotien in kleinen kugeligen Verbänden.

„ V. F wenig, FF reichlich fettes Öl vorhanden, Z auffallend große Zellsaftvakuolen.

„ VI. + schlechtes, ++ mäßiges, +++ gutes, ++++ sehr gutes Wachstum.

„ VII. Durchschnittswerte täglich in Millimeter innerhalb der ersten 3 Wochen nach Beimpfung der Platte. Beginn des Markierens in der Regel bei einem Kulturdurchmesser von 1,5 cm.

vorhanden sind. In diesem Augenblick wachsen dann die Konidien wieder aus, und das neu entstandene sekundäre Myzel wächst nun seinerseits so lange, bis der Agar physiologisch vollkommen trocken geworden ist.

Was nun auch bei weiterem Studium der Tabelle auffällt, ist die ungemein große Variabilität dieses Pilzes, die schon makroskopisch sehr ins Auge fällt. Das gilt nicht nur für die Qualität der verwendeten Böden, sondern auch für die Konzentrationsverhältnisse der dargebotenen Stoffe.

Wie schon einmal erwähnt, üben ganz geringfügige Änderungen des Prozentgehaltes großen Einfluß aus, wie das Verhalten des Pilzes auf den verschiedenen Saccharoseböden zeigt (N.-Boden 6—8, Tab.): Die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt mit der Konzentration der Nährstoffe ab; demnach muß das Zuwachsoptimum bereits auf einer noch niedrigeren Konzentration erreicht sein, wenn nicht 1% Saccharose das Optimum ist [s. K. O. Müller (30, S. 37)]. Andererseits nimmt die Hyphendicke und die Wachstumsgüte zu. Da die Wachstumsgüte mit der Verzweigungsdichte identisch ist, kann man auch hier mit K. O. Müller annehmen, daß eine Korrelation zwischen Wachstumsgüte (Verzweigungsdichte) einesteils und dem Hyphendurchmesser andernteils besteht. Dies prägt sich im allgemeinen auch darin aus, daß auf den Böden und Konzentrationen, wo der Pilz eine maximale Hyphendicke nicht unter 3,5 μ besitzt, auch kein dendritenförmiger Wuchs des Gesamtmyzels zu beobachten ist.

Im übrigen ist eine einheitliche Deutung der Tabelle nach allgemeinen Gesichtspunkten mit Schwierigkeiten verknüpft. Es sei aber dennoch versucht, einige weitere Richtlinien zu geben.

Geringe Hyphendicke und große Wachstumsgeschwindigkeit scheinen Hand in Hand zu gehen (vgl. Tab., N.-Böden 5, 6, 11, 20, 25, eventuell auch 17). Wo aber gleichzeitig reichlich Konidien oder Sklerotien gebildet werden, tritt eine Retardierung der Wachstumsgeschwindigkeit ein (Tab. N.-Böden 1, 4, 12, 15, 16, 22, 23). Aus dieser ganzen Gruppe fallen in bemerkenswerter Weise die Stärkeböden heraus (9, 10), dann der Peptonboden (18). Auf ersterem wächst der Pilz am raschesten, bildet reichlich Konidien und Sklerotien und erreicht auch den Höchstbetrag an maximaler Hyphen-

dicke. Ähnlich auf Pepton, wo aber die Wachstumsgeschwindigkeit eine geringere ist.

Die Konidienbildung ist an das Vorhandensein von Stickstoff gebunden (19 und 20). Konidienbildung und Wachstumsgüte stehen im großen ganzen ebenfalls in Korrelation. Fettspeicherung dagegen ist unabhängig von reichlicher Konidienbildung.

Der dendritenförmige Wuchs unter Aufgabe des kreisförmigen Kulturrandes ist ein Zeichen für ungünstigen Nährboden bzw. zu geringe Konzentration der organischen Beimengungen (s. Dextrose- und Saccharoseböden). K. O. Müller hat dasselbe bei den höchsten osmotischen Konzentrationen für das Wachstum von Saprolegnia gefunden (30, S. 309). Jedenfalls ist das Aufgeben des kreisförmigen Wuchses ein Prüfstein für die Güte des Nährbodens.

Ausbildung von Luftmyzel deutet auf günstige Ernährungsbedingungen. Es tritt nur auf bei Nährböden, die dem Pilz gestatten, die ganze Platte zu durchwachsen (Zeichen 4 L auf Tabelle).

An C-Quellen nimmt der Pilz von Monosen nur höherprozentige gerne auf (Dextrose 3 %). Sonst wird aber Lävulose, dann Galaktose bevorzugt.

Ebenso auffallend ist (aber analog mit dem Verhalten auf geringerprozentiger Dextrose), daß unter den Biosen Malzzucker ein sehr rasches Wachstum auslöst, aber unter Dendritenbildung und weitgehender Reduktion der Hyphendicke (2 μ Maximum). Die Wachstumsgüte muß mit „schlecht" bezeichnet werden. So macht es zunächst den Eindruck, als ob bei der Auflösung der Stärke durch die Pilzdiastase in diesem Falle die (sonst normale) Bildung von Malzzucker eine untergeordnete Rolle spielt. Denn, teleologisch gedacht, wäre es für den Pilz sehr unzweckmäßig, wenn seine Diastase ausgerechnet einen Zucker bildet, den er nur sehr schlecht verwenden kann.

Aber die Bildung von Maltose auf Distanz beim Eindringen des Pilzes in eine Rindenzelle würde uns etwas anderes leicht erklären, nämlich die Arbuskelbildung (andere Zucker in geringer Konzentration könnten hierbei auch noch in Betracht kommen).

Von Maltose als Disaccharid darf angenommen werden, daß sie die Plasmahaut nicht passiert; sollten noch andere Biosen entstehen, so können diese von dem Pilz, wenn er in die Zelle eingedrungen ist, besser verwertet und so in Monosen übergeführt werden, die durch die Zellhaut hindurchgelassen werden.

Nun reduziert einerseits Maltose die Hyphendicke auf das Minimum (2 μ), was auch für die Endauszweigungen der Arbuskeln charakteristisch ist. Andererseits aber verursacht Maltose (oder auch die Stoffwechselprodukte, die der Pilz bei ihrer Aufnahme produziert) auf künstlichem Nährboden eine Wuchsform, die ich mit „pinienförmig" bezeichnet habe. Wenige Hyphenstränge wachsen vom alten Agarstück aus weit in den Agar hinaus, verzweigen sich dann aber derartig reichlich, meist von einer Stelle aus, daß das Bild einer Pinienkrone entsteht. Vergleicht man die bäumchenförmigen Arbuskeln damit, so ist die Ähnlichkeit der beiden Gebilde doch einigermaßen frappierend. Daß die Arbuskeln innerhalb der Pflanze nicht die Ausmaße wie auf künstlichem Nährsubstrat erreichen können, ist selbstverständlich. Es steht dem Pilz ja nur der Raum einer einzigen Zelle zur Verfügung. Wenn es gelänge, den Pilz auf diesem 1%igen Maltoseboden auch noch so zu beeinflussen, daß er keine Querwände mehr ausbildet, dann hätten wir echte künstliche Arbuskeln vor uns, die sich von den natürlichen nur durch ihre Größe unterscheiden.

Die Tatsache, daß in den Interzellularen der Pflanze vom Pilz keine Arbuskeln gebildet werden, kann man nach dem Vorausgehenden nun dadurch erklären, daß die Maltose innerhalb der Zellen eingeschlossen bleibt.

So kann man das Wichtigste über die Bedingungen der Arbuskel- und „Wölkchenbildung" wie folgt zusammenfassen:

Arbuskeln treten in allen jenen Zellen auf, die entweder eine für den Pilz überhaupt ungünstige Zuckerart (Maltose) oder einen anderen Zuker in Hemmung auslösender Konzentration (Dextrose 1%, Saccharose 1%) besitzen. Ob die feinen Hyphenenden der Arbuskeln nun auch wirklich platzen und zur sogenannten Wölkchenbildung schreiten, hängt davon ab, inwieweit im Zellsaft der infizierten Zellen freie Säuren vorhanden sind (s. S. 417). Somit gäbe es auch Arbuskeln, an denen eine Plasmoptyse überhaupt nicht auftritt, indem eben nicht alle b e i d e n zur typischen Arbuskelbildung erforderlichen Faktoren gegeben sind. Dieser Fall ist nun in der Tat ungemein häufig. Die Gründe hierfür erschienen aber zunächst sehr rätselhaft. Jedenfalls läßt sich dadurch auch das Zustandekommen der sogenannten zusammengesetzten Arbuskeln verständlich machen. Diese zeigen nur selten Plasmoptyse, die Hyphe dringt unter charakteristischen Auszweigungen durch eine Zelle hindurch, die Verzweigungsspitzen finden aber nicht die optimalen Be-

dingungen zum Platzen, und so gelingt es der einen oder anderen, sich in eine benachbarte Zelle zu retten, wo sich das gleiche Spiel wiederholen oder ein typisches Arbuskel mit geplatzten Hyphen bilden kann (Textfig. 2a zeigt einen solchen Anlauf zur Arbuskelbildung, der Hyphe ist es aber gelungen, die Zelle wieder zu verlassen und nun noch ein interzelluläres terminales Vesikel zu bilden).

Nach diesem notwendigen Exkurs zurück zur Auswertung der Tabelle! Von den C-Quellen gestattet der Stärkeboden, wie zu erwarten war, dem Pilz ein sehr gutes Wachstum, ohne daß aber dabei die Wachstumsgeschwindigkeit reduziert würde. Hingegen wird sehr wenig Fett gespeichert. Die durch die Pilzdiastase auf dem künstlichen Nährboden gelöste Stärke liefert dem Pilz, unter den obwaltenden Bedingungen wenigstens, die Zucker unter optimalen Bedingungen, oder es sind andere Faktoren vorhanden, die die entstandenen Stoffwechselprodukte nicht zur Wirkung kommen lassen.

Vergleicht man sämtliche gereichte C-Quellen, wird mit Recht der Stärkeboden als der weitaus günstigste angesehen werden müssen. Somit möchte ich den Pilz als einen Stärkespezialisten bezeichnen.

Auf allen dargereichten speziellen Stickstoffböden (Tab. 14—18, 21) wird die mit „Mäßig" bezeichnete Wachstumsgüte nicht unterschritten, mit Ausnahme des Harnstoffs. Jedenfalls wird durch Darreichung von Aminoverbindungen das Wachstum gefördert, besonders durch Glykokoll (vgl. auf. Tab. die N.-Böden 14 und 16 mit 1 und 6), was sich schon durch die äußere Form der Kulturen zu erkennen gibt. Da im rohen Waldhumus der Stickstoff hauptsächlich in Form von Ammoniumverbindungen und Aminosäuren vorkommt, ist diese Tatsache sehr hoch zu bewerten.

Pepton löst auch hier einen üppigen Wuchs aus, was aber nicht weiter zu verwundern ist.

Stickstofffreie Böden (Tab. 19 und 20) reduzieren die Hyphendicke auf das Minimum, erhöhen aber die Wachstumsgeschwindigkeit. Sie sind auch die einzigen, wo keine Konidien gebildet werden.

Die Vermutung, daß Tannin verwertet werden kann (s. S. —?), bestätigt sich, wenn auch das Wachstum auf dem verwendeten Boden nur ein mäßiges ist.

Auf Bodenextrakt tritt, wenn man so sagen kann, eine Art Vergeilung ein: Äußerste Reduktion des Hyphendurchmessers bei größter Wachstumsgeschwindigkeit (Tab. N.-Boden 26). Wenn der Pilz wirklich auf die Stoffe in der Wurzel angewiesen ist, wie an

anderer Stelle bereits festgestellt wurde, dann wäre dieses Verhalten ohne Zweifel als sehr zweckmäßig zu betrachten.

IX. Die Synthese.

Um sterile Individuen von Vinca minor zu erhalten, wurden Stecklinge hergestellt. Nach Wegschneiden sämtlicher etwa vorhandener Wurzeln folgte eine gründliche äußere Reinigung mit Seife und Bürste, worauf die Pflanzen unter dem Strahl der Wasserleitung nochmals kräftig abgespült wurden. Hierauf kamen sie entweder in eine Wasserkultur (wozu gewöhnliches Leitungswasser diente) oder sie wurden in sterilen Sand gesteckt. Nach Verlauf von 1—2 Monaten besaß die Mehrzahl der Pflanzen ein genügend starkes Wurzelsystem. Die Pflanzen erhielten sich auf diese Weise völlig frei von Pilzen. Es wurde niemals eine infizierte Wurzel gefunden. Das bestätigt die Angaben, die schon Pfeffer (32, S. 359) und Frank (14, S. 253) gemacht haben, wonach Wasser- und Sandkulturen pilzfrei werden.

Als Substrat für den Pilz diente ein Gemisch von ungefähr 6 Teilen Sägemehl, 3 Teilen Sand und 1 Teil gehacktem Sphagnum. Die Züchtung geschah in Flaschen, wie sie Burgeff (5) für die Anzucht der Orchideenpilze beschreibt.

Es wurde auf sämtliche isolierte Pilze geprüft, die äußerlich den Eindruck machten, der wahre Endophyt zu sein. Nach ungefähr 4—5 Monaten hatten alle den Flascheninhalt bis an die Glaswand durchwachsen. Das verpilzte Substrat kam in kleine sterilisierte Blumentöpfchen zugleich mit je einer sterilen Pflanze. Dann wurde das Ganze auf sterile Glasplatten in ein Gewächshaus gestellt und mit Glasglocken überdeckt. Gegossen wurde mit abgekochtem Leitungswasser.

Das Resultat nach ca. 6 Wochen war folgendes:

Bei manchen der verwendeten Pilze zeigte sich ein Eindringen in die Epidermis, kaum noch in die Durchlaßzellen.

Nur der oben eingehend in der Tabelle beschriebene Pilz drang in tiefere Zellschichten ein, wo er aber anscheinend sofort verdaut wurde. Ein größerer Erfolg stellte sich aber erst ein, als die Kultur dem vollständigen Vertrocknen preisgegeben wurde. Es macht den Eindruck, als ob unter den im Versuch gegebenen Bedingungen erst die Trockenheit des Substrats den Pilz veranlaßt, in die Wurzel einzudringen.

Auf diese Weise erhielt ich neben Sporangiolen auch Körnchenstadien sowie Schlingen von intrazellulären Hyphen, jedoch einen

bemerkenswerten Mangel von interzellulären Hyphen. Entweder ist der Pilz durch die künstliche Kultur so weit degeneriert, daß er beispielsweise nicht mehr in der Lage ist, die Mittellamellen aufzulösen und interzellulär zu wachsen, oder es ist die höhere Pflanze durch die monatelange ungewöhnliche Wasserkultur ebenfalls in einem für die Ausbildung einer typischen Mykorrhiza ungünstigen Sinne beeinflußt worden.

Somit entsprechen die Versuchsbedingungen vielleicht doch zu wenig der Wirklichkeit. Denn schon nach Franks Versuchen (14, S. 253) verlangt die Mykorrhiza zu ihrer typischen Ausbildung die natürlichen Bedingungen im Humusboden. Wachsen z. B. Wurzeln in reinen Sandboden hinein, so wird an dem neuen Zuwachs keine Mykorrhiza ausgebildet.

X. Das biologische Verhältnis von Pilz und Pflanze.

Was darüber an Literatur vorhanden ist, findet man in übersichtlicher und kritischer Zusammenstellung bei Burgeff (4 u. 6) und Weyland (44), weshalb es sich erübrigt, hier einen geschichtlichen Exkurs zu machen. Auch ist seitdem kein isolierter Wurzelpilz mehr ernährungsphysiologisch genauer untersucht worden.

Was unseren Fall von dem der Orchideen hauptsächlich unterscheidet, ist der Umstand, daß für die höhere Pflanze von vornherein nichts postuliert zu werden braucht, weder aus anatomischen noch aus biologischen Gründen.

Von allen Theorien über Wert oder Unwert der Mykorrhiza beansprucht die großzügige Theorie Stahls (38) vom Kampf um die Nährsalze das größte Interesse.

Vinca minor muß, wenigstens nach Stahls Definition, als obligat mykotroph bezeichnet werden. Es gelang mir nicht, ein gänzlich unverpilztes Individuum zu finden. Sie ist xerophil, hat starken Blattglanz, besitzt aber keine Zucker-, sondern Stärkeblätter.

Der Boden, auf dem Vinca zumeist vorkommt, ist roher Waldhumus, auf dem mykotrophe und nicht mykotrophe Pflanzen in gleicher Weise wachsen. Bevor ich versuche, die Stahlsche Theorie auch für unsere Pflanze zu diskutieren, sei auf die Untersuchungen von Kapitel VI hingewiesen (Über die Verteilung des Endophyten innerhalb der Wirtspflanze und die Frage der Stoffleitung mittels der Kommunikationshyphen).

Wenn in ausgiebiger Weise Nährsalze durch den Pilz ins Innere der Wurzel geschafft werden sollen, müssen von vornherein zwei

Bedingungen gegeben sein: 1. rege Stoffleitung durch die Verbindungshyphen, 2. eine beträchtliche Zahl der Kommunikationshyphen, die jener der funktionierenden Wurzelhaare mindestens äquivalent ist. Diese Bedingungen sind nicht erfüllt. Also kommt eine ausgiebige Gewinnung von Nährsalzen auf osmotischem Wege durch Vermittlung des Wurzelpilzes kaum in Betracht.

Nicht zu vergessen ist ferner, daß über ein Drittel des Gesamtwurzelsystems überhaupt nicht verpilzt ist, von dem wohl ohne weiteres angenommen werden darf, daß es normal funktioniert. Was das nicht verpilzte Drittel des Wurzelsystems zu leisten imstande ist, muß füglich auch den anderen zwei Dritteln zugestanden werden, falls es aus irgendeinem Grunde ebenfalls nicht verpilzt wäre. In diesem Zusammenhang sei auch noch auf die Tatsache hingewiesen, daß unverpilzt im Wurzelkasten aufgezogene Pflanzen von Vinca minor die infizierten an kräftigem Wachstum weit übertrafen.

Es bliebe also nur ein einziger Ausweg, im Sinne Stahls für einen Vorteil auch der Wirtspflanze zu plädieren, und diesen kann ich in Übereinstimmung mit Frank (17) nur im Gewinn jener Nährstoffe finden, die ihr durch die sogenannte Verdauung anheimfallen. Und der Stoff, der hierbei die Hauptrolle spielen dürfte, ist der Stickstoff des aus Eiweißkörpern zusammengesetzten Pilzprotoplasten in bereits komplizierter Bindung. N in Form von Salzen dürfte mit den übrigen Nährsalzen bei diesem Vorgang keine bedeutende Rolle spielen.

Es mag also zugestanden werden, daß die höhere Pflanze es versucht, sich an den Stellen, wo sie den Pilz eindringen läßt, einen gewissen Stickstoffgewinn zu sichern, gewissermaßen als Entgelt dafür, daß die befallenen Wurzeln nun auch in ihrer Weiterentwicklung stark gehemmt werden (s. S. 428). Ob jedoch die Pilze als solche notwendig sind, darüber lassen sich höchstens Vermutungen aussprechen.

Nun hat aber Ziegenspeck (46) kürzlich nachgewiesen, daß die mykotrophen Pflanzen ihren Stickstoff nicht in Form von Salzen der Salpetersäure, sondern mindestens in Form von Ammoniumverbindungen aufnehmen[1]), wenn nicht gar aus den Aminosäuren des

1) Eigene Versuche des Verfassers in dieser Richtung scheiterten. Es war gedacht, Vinca minor-Stecklinge, die in Leitungswasserkultur die ersten Adventivwurzeln gebildet hatten, in Nährlösungen mit verschiedenen N-Beigaben weiter zu kultivieren und an der Güte des fertig ausgebildeten Wurzelsystems zu beurteilen,

Bodens. Die Befunde bei der Reinkultur des Endophyten auf solchen Böden würden diese Anschauung unterstützen. Pfeffer (32) hat sich seinerzeit schon in diesem Sinne geäußert, Burgeff (4) hat dies auch für die Orchideenpilze nachgewiesen, und Miehe (28) tritt ebenfalls dafür ein. Nur mache ich insofern eine Einschränkung, als ich glaube, daß der vom Pilz aufgenommene Stickstoff eben nicht auf osmotischem Wege, sondern lediglich durch Resorption der Arbuskeln in komplizierterer Bindung der Pflanze anheimfällt.

Damit setze ich mich mit Frank (15) in Gegensatz zu Pfeffer (32) und Weyland (44). Letzterer vertritt im übrigen die Ansicht, daß der höheren Pflanze durch den Wurzelpilz die Aufnahme des Stickstoffs in Form von Harnstoff vermittelt wird.

Frank (15) hat die Ansicht vertreten, daß sich der Nährstoffgewinn, den die Pflanze von ihrem Symbionten hätte, eben aus der Tatsache der Verdauung ergäbe. Von ihm stammt der bekannte Vergleich mit der Insektivorie. Huber ist neuerdings (19) auf Grund seiner Beobachtungen an Liparis Loeselii zu derselben Ansicht gekommen. Burgeff schreibt diesem Vorgang ebenfalls eine gewisse Rolle zu. Noël Bernard (1) dagegen will die Phagozytose lediglich als „Verteidigungsmittel" aufgefaßt haben, ihm schließt sich Weyland (47) an, indem er behauptet, es wäre mit der Verdauung wie mit einer Bakterieninfektion, die nicht genügend stark ist. Die Krankheitserreger würden im Blut von den Leukozyten erfaßt, getötet und schließlich resorbiert unter Erscheinungen, die den Vorgängen bei der Verdauung der Pilzhyphen ganz entsprächen.

Diesen Vergleich kann man mit Vorbehalt auch auf die Plasmoptysen-Mykorrhiza anwenden und in gewissem Sinne sogar noch besser als beispielsweise auf die Knäuelverpilzung der Orchideen. Die Betrachtungen über das Platzen der Arbuskeln und die Injektion artfremden Plasmas berechtigen im höheren Maße dazu. Der Vorbehalt ist nur der, daß bei einer Bakterieninfektion im tierischen Körper das Gesamtgewicht der resorbierten Bakterien im Vergleich

---

ob Nitrate oder Ammoniumsalze die bessere Stickstoffquelle sind. Sobald aber die Stecklinge in die Nährlösung kamen, stellten die Wurzeln das Wachstum alsbald ein und starben ab. Neue Adventivwurzeln wurden nicht angelegt. Selbst in $^1/_{10}$ n Nährlösung (nach A. Meyer) zeigte sich das gleiche Bild. Quantitative Bestimmungen von verschiedenen N-haltigen Nährlösungen, in denen fertig ausgebildete Wurzelsysteme längere Zeit gestanden hätten, würden auch kein sicheres Resultat geben, da die Wertbestimmungen infolge des trägen Wuchses von Vinca minor innerhalb der Fehlergrenze liegen.

zum Körpergewicht des infizierten Tieres ein verschwindendes ist. Anders ist es hier. Die Zahl der sogenannten „Verdauungszellen“ in der Rindenschicht einer stärker verpilzten Wurzel beträgt nach roher Zählung mindestens 10% sämtlicher Rindenzellen. Rechnen wir den Anteil am Gesamtprotoplasmagewicht einer Arbuskelzelle für jeden der beiden „Symbionten“ mit der Hälfte, so ergibt sich durch Resorption der eingedrungenen Pilzhyphen eine Gesamtzunahme von ca. 5%, bezogen auf das Gesamtprotoplasmagewicht sämtlicher Rindenzellen.

Da das resorbierte Pilzplasma in erster Linie aus Eiweißstoffen besteht, so ist auf jeden Fall ein nicht unbedeutender Stickstoffgewinn zu verzeichnen, womit der Einwand von Weyland und auch von Pfeffer für die Plasmoptysen-Mykorrhiza an Gewichtigkeit verlieren dürfte.

Die Beobachtung Ziegenspecks (46), daß mykotrophe Pflanzen im Vergleich zu nicht mykotrophen desselben Standorts ein schwach ausgebildetes Wurzelsystem haben, sei nicht unerwähnt. Ich erinnere daran, daß infizierte und nicht infizierte Vinca-Pflanzen dasselbe zeigen. Man könnte denken, daß die Mykotrophie somit wirklich ganz im Sinne Stahls einen Ersatz für ausgedehntes Wurzelsystem bietet, im Widerspruch damit steht allerdings die erwähnte geringe Anzahl der Kommunikationshyphen.

Daß der Pilz die höhere Pflanze aber in anderer Beziehung schädigt, dürfte auch keinem Zweifel unterliegen. Das zeigt deutlich das zurückgesetzte Wachstum infizierter Wurzeln und die gänzliche Einstellung des Wachstums von an der Spitze infizierten Wurzelspitzen. Hierfür ist wohl in erster Linie die physiologische Wirkung des Hyphenplatzens verantwortlich zu machen, das eine Revolution innerhalb der davon betroffenen Zellen auslöst und eine Umorganisation unter großem Energieaufwand notwendig macht, was auch durch das Verhalten des Zellkerns und des Nukleolus gekennzeichnet wird. In diesem Augenblick müssen alle verfügbaren Stoffe der Wurzel zur Abwehr und Unschädlichmachung des Eindringlings verwendet werden.

Der Verlust der Kohlehydrate dürfte die höhere Pflanze dagegen nicht allzu schwer treffen, und Vinca speziell ist eine immergrüne Pflanze. Dazu kommt, daß die Kohlehydrate des unverpilzten Drittels unangetastet bleiben. Der Pilz selbst scheint speziell auf Stärke und Zucker in höherer Konzentration eingestellt zu sein, was er in der ihm zusagenden Quantität im Rohhumus des Waldes nie finden kann.

Es ist also eher etwas für den Pilz zu postulieren, nämlich Stärke und Zucker in genügender Konzentration, und das findet er nur in der Wurzel der höheren Pflanze. Er wächst auch nur in Umgebung der Wurzel gut (S. 429). Somit ist er als Parasit zu betrachten, der in die Wurzeln eindringt, um optimale Lebensbedingungen zu haben. Daß er dabei mit einem Teil seines Körpers der höheren Pflanze zum Opfer fällt, schadet ihm nichts, er kann sich immer vom Bodenmyzel aus gewissermaßen regenerieren.

Ob hier noch von einer mutualistischen Symbiose gesprochen werden darf, lasse ich dahingestellt, es kommt nur darauf an, wie weit der Begriff Symbiose gefaßt wird. Burgeff (4, S. 7) hat diesen Begriff zu weit ausgedehnt, und seiner Definition nach könnte allerdings auch hier noch von einer Symbiose gesprochen werden. Denn er sagt: Die Symbiose ist in dem Augenblick gebildet, in dem Regulierung des Parasitismus eintritt, damit ist die Existenz der beiden Komponenten gesichert.

XI. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Bei den Wurzeln der Asclepiadeen und Apocyneen findet sich eine sogenannte „Exodermis", die aus Kurzzellen und Langzellen besteht. Diese sind verkorkt, jene aber nicht, besitzen dagegen eine distale Wandverdickung, die getüpfelt ist. Diese kalottenförmige Auflagerung besteht bei den Asclepiadeen aus zwei Schichten. Die äußere ergibt die Ligninreaktion, während die innere nach ihrem färberischen Verhalten aus einem Gemisch von Kallose und Pektinstoffen besteht. Die Nitratreaktion verläuft negativ. Bei den Apocyneen fehlt die verholzte Schicht.

2. Die Kurzzellen dienen bei der Infektion als Durchlaßzellen. Die Tüpfel der Kalotte benützt der Pilz als vorgebahnten Weg, um unter Bildung eines sogenannten Appressoriums in die Kurzzelle einzudringen. Am Passieren der Langzellen wird er durch die Korkschicht verhindert. Weiterhin breitet sich der Pilz nach allen Richtungen innerhalb der Wurzelrinde aus, ausschließlich der Endodermis. Er wächst sowohl inter- wie intrazellulär. Mit dem Eindringen der Pilzhyphen schwindet die Stärke der benachbarten Rindenzellen auf Distanz, ebenso erleiden die Gerbstoffschläuche eine Veränderung ihres Inhalts, werden aber nicht infiziert. Die Infektion tritt in der freien Natur das ganze Jahr über ein, bevorzugt sind jedoch die Monate März—Mai.

3. Es gibt keine sogenannte „Pilzwirtszellschicht“. Die Organe des Endophyten können sich daher an jeder beliebigen Stelle der Wurzelrinde finden, ausgenommen Epi- und Exodermis.

Terminale und interkalare Vesikel finden sich entweder inter- oder intrazellulär. Sie schließen sich selten mit einer Querwand gegen die Mutterhyphe ab und sind nicht als Propagationsorgane, sondern als Reservestoffbehälter aufzufassen.

Die Arbuskeln sind bäumchenförmig verzweigte Pilzhyphen, die in einem bestimmten Stadium an den Enden ihrer feinsten Auszweigungen stark mit Hämatoxylin färbbare Körnchen besitzen. Diese zeigen meist wölkchenförmige Anordnung, verteilen sich aber später ziemlich gleichmäßig über die ganze Zelle (granules Janses). Ihrer Entstehung nach sind sie Eiweißausfällungen, die dadurch zustande kommen, daß die Arbuskelenden infolge der im Wirtszellsaft vorhandenen freien Säuren platzen und ihren Inhalt in die Rindenzelle ergießen. Diese „Plasmoptyse“ wurde an dem in Reinkultur gezogenen Endophyten künstlich ausgeführt und erfolgte im Optimum bei einer Säurekonzentration von etwa 0,025 n HCl. Auf Grund dieser Tatsachen wird vorgeschlagen, diesem Typ der endotrophen Mykorrhiza den Namen „Plasmoptysen-Mykorrhiza“ zu geben.

Die Sporangiolen sind die letzten Reste des resorbierten Pilzes und bestehen in der Hauptsache aus der kollabierten Pilzmembran, doch ergeben sie auch bestimmte Eiweißreaktionen. Ob hierbei Pilz- oder Wirtseiweiß im Spiele ist, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Als desorganisierte Masse sind sie völlig strukturlos.

4. Der Kern der Arbuskelzelle vergrößert sich anläßlich der Plasmoptyse um ein Drittel seines früheren Wertes, der Nukleolus sogar um mehr als die Hälfte. Die beiden Maxima fallen jedoch zeitlich nicht zusammen, sondern der Kern nimmt bereits wieder ab, während der Nukleolus noch zunimmt. Es sind Beziehungen anzunehmen zu einer gewissen Gegengiftbildung anläßlich der Injektion artfremden Plasmas einerseits und zur weiteren „Assimilation“ des nun unschädlich gemachten Pilzplasmas andererseits.

5. Das Wurzelwachstum wird durch den Pilz erheblich beeinträchtigt, mitunter sogar zum Stillstand gebracht. Andererseits erscheint er im Boden an die unmittelbare Nähe der Wirtspflanze gebunden. In der Kultur zeigten auch die oberirdischen Teile von

pilzfrei gezogenen Vinca minor-Individuen eine weitaus üppigere Entwicklung als solche von infizierten.

6. Vinca minor ist obligat mykotroph, ungefähr zwei Drittel des Wurzelsystems ist verpilzt, der Rest ist pilzfrei. Die Anzahl der Verbindungshyphen zwischen Außen- und Innenmyzel im Vergleich zu den intakten Wurzelhaaren ist spärlich. Reger Stoffwechsel vermittelst der Kommunikationshyphen findet nicht statt.

7. Es gelingt, den Wurzelpilz von Vinca und Vincetoxicum auf 1,5% Leitungswasseragar mit $^1/_{20}$% Stärke als C-Quelle zu isolieren. Er sieht auf bestimmten Nährboden den Orchideenpilzen zum Verwechseln ähnlich, weshalb vorgeschlagen wird, ihn ebenfalls zur Gattung Rhizoctonia zu stellen (Rhizoctonia Apocynacearum). Doch unterscheidet er sich von diesen hauptsächlich durch seine geringere Wachstumsgeschwindigkeit sowie durch seine ungemein große Variabilität in der Wuchsform der Gesamtkultur.

8. Das üppigste Wachstum zeigt der Pilz, abgesehen von Peptonböden, auf 2% Stärkeagar. Von N-Quellen bevorzugt er Aminoverbindungen. Gelatine wird verflüssigt. Niedrige Zuckerkonzentrationen verursachen bedeutende Wachstumshemmungen (pinienförmigen Wuchs). Das erinnert an die Arbuskelbildung und legt den Gedanken nahe, daß es möglicherweise auch im Innern der Wirtspflanze bestimmte Zucker-Arten oder -Konzentrationen sind, die die Arbuskelbildung auslösen.

9. Die künstliche Synthese vollzieht sich nur, wenn das Substrat stark austrocknet.

10. Wegen der geringen Anzahl der Kommunikationshyphen und des unbedeutenden Stoffwechsels innerhalb oder entlang dieser kann die Stahlsche Nährsalztheorie kaum in Betracht kommen. Es kann ein Vorteil für den Wirt in Anlehnung an Frank höchstens darin gesehen werden, daß sich die befallene Pflanze durch „Assimilation" der durch Plasmoptyse unschädlich gemachten Pilzhyphen einen gewissen Stickstoffgewinn sichert. Andererseits muß aber doch darauf hingewiesen werden, daß durch den Pilz das Wurzelwachstum empfindlich beeinträchtigt wird, daß der Pilz Stärkespezialist ist und sich von der unmittelbaren Umgebung der Wirtspflanze abhängig zeigt, daß in der freien Natur schon ein Drittel des ganzen Wurzelsystems ohne Pilz auskommen kann, zuletzt endlich, daß in der Kultur unter sonst gleichen Bedingungen pilzfreie Pflanzen im Vergleich zu infizierten bedeutend besser gedeihen. Mithin wäre von einer wirklichen Symbiose nur dann zu

sprechen, wenn man beweisen könnte, daß gegenüber all diesen Schädigungen der Gewinn an Stickstoff durch Resorption der Arbuskelhyphen ein genügendes Äquivalent ist.

München-Nymphenburg, Botan. Institut der Universität,
im Februar 1923.

Literaturverzeichnis.

1. Bernard Noël, L'evolution dans la Symbiose. Ann. d. Sc. Nat., Tome IX. Paris 1909.
2. Ders., Les Mycorrhizes des Solanum. Ann. d. Sc. Nat. Extrait.
3. Bierberg, W., Die Bedeutung der Protoplasmarotation für den Stofftransport in den Pflanzen. Flora, Bd. XXXIX. 1909.
4. Burgeff, H., Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze. Jena 1909.
5. Ders., Die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen. Jena 1911.
6. Ders., Symbiose, Handw. d. Bioch. d. Naturw., Bd. IX. Jena 1913.
7. Busich, E., Die endotrophe Mykorrhiza der Asclepiadaceae. Vhdlgn. d. K. K. Zool. Bot. Ges., Bd. LXIII. Wien 1913.
8. Claussen, P., Entwicklunggeschichtl. Untersuchungen über den Erreger der als Kalkbrut bez. Krankheit der Bienen. Arb. aus der Biol. Reichsanstalt, Bd. X, Heft 6. 1921.
9. Christoph, H., Untersuchungen über die mykotrophen Verhältnisse d. Ericales und die Keimung von Pirolaceen. Beiheft zum Botan. Zentralbl., Bd. XXXVIII, Abt. 1. 1921.
10. Demeter, K., Vergleichende Asclepiadeenstudien. Flora, Bd. CXV. 1922.
11. Faber, F. C. v., Das erbliche Zusammenleben von Bakterien u. trop. Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI. 1912.
12. Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
13. Ders., Über Plasmoptyse bei Bakterien. Ber. D. Bot. Ges., Bd. XXIV. 1906.
14. Frank, B., Über die physiologische Bedeutung der Mykorrhiza. Ber. D. Bot. Ges. 1888.
15. Ders., Über die auf Verdauung durch Pilze abzielende Symbiose der mit endotrophen Mykorrhizen begabten Pflanzen. Ber. D. Bot. Ges., Bd. IX. 1891.
16. Gallaud, J., Études sur les Mycorrhizes endotrophes. Rev. gén. de Bot., Tome XVII. 1905.
17. Garbowsky, L., Plasmoptyse und Abrundung bei Vibrio Proteus. Ber. D. Bot. Ges., Bd. XXIV. 1906.
18. Hoeber, R., Physikalische Cemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1922.
19. Huber, Br., Zur Biologie der Torfmoosorchidee Liparis Loeselii Rich. Sitz.-Ber. d. Ak. d. Wiss., Wien, Abt. I, Bd. CXXX.

20. Janse, J. M., Les Endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. Ann. d. Jard. Bot. d. Buit. 1897.
21. Juel, H. O., Beitrag z. Kenntnis der Hautgewebe der Pflanzen. Bih. till K. Svenska Vet. Akad. Handl., Bd. IX. 1884.
22. Kroemer, K., Wurzelhaut, Hypodermis und Endodermis der Angiospermenwurzel. Bibl. Bot., Heft 59, Stuttgart 1903.
23. Kusano, S., Gastrodia elata and its Symbiotic Association with Armillaria mellea, Journal of College of Agriculture. Tokyo 1911.
24. MacLuckie, J., Studies in Symbiosis. Proceedings of the Linn. Soc. of New Southwales, Part III. 1922.
25. Magnus, W., Studien an der endotrophen Mykorrhiza von Neottia Nidus Avis. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXV. 1900.
26. Magrou, J., Symbiose et Tuberisation. Ann. d. Sc. Nat., 10. Série, Tome III. Paris 1921.
27. Maige, A., Influence de la Nutrition organique sur le Noyau des cellules vegetales. Réunion Biol. de Lille. 1922.
28. Miehe, H., Anat. Untersuchung der Pilzsymbiose bei Casuarina equisetifolia nebst einigen Bemerkungen zum Mykorrhizenproblem. Flora 1918, Stahl-Festschrift.
29. Molisch, H., Mikrochemie der Pflanze. Jena 1921.
30. Müller, K. O., Untersuchungen zur Entwicklungsphysiologie des Pilzmyzels. Beitr. z. Allg. Botanik, Bd. II. 1922.
31. Noack, Kurt, Beiträge zur Biologie der thermophilen Organismen. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. LI. 1912.
32. Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. Leipzig 1897.
33. Rayner, M. Ch., Obligate Symbiosis in Calluna vulgaris. Ann. of Bot. Vol. XXIX. 1915.
34. Rexhausen, L., Über die Bedeutung der ektotrophen Mykorrhiza für die höheren Pflanzen. Cohns Beitr. z. Biologie d. Pflanzen, Bd. XIV. 1920.
35. Ridler, W. F. F., The Fungus present in Pellia epiphylla. Ann. of Bot. Vol. XXVI. 1922.
36. Saccardo, P. A., Sylloge Fungorum, Vol. XIV.
37. Shibata, K., Zytologische Untersuchungen über die endotrophen Mykorrhizen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVII. 1902.
38. Stahl, E., Der Sinn d. Mykorrhizenbildg. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIV. 1900.
39. Stern, K., Über negative Osmosen und verwandte Erscheinungen. Ber. D. Bot. Ges., Bd. XXXVII. 1919.
40. Tischler, G., Allgemeine Pflanzenkaryologie. Linsbauers Handb. d. Pflanzenanatomie, Bd. II. Berlin 1921—22.
41. Tunmann, O., Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913.
42. Úlehla, V., und Moràvek, V., Über die Wirkung von Säuren und Salzen auf Basidiobolus ranarum. Ber. D. Bot. Ges., Bd. XL. 1922.
43. West, C., On Stigeosporium Marattiacearum and the Mykorrhiza of the Marattiaceae. Ann. of Bot., Vol. XXI. 1917.
44. Weyland, H., Zur Ernährungsphysiologie mykotropher Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI. 1912.
45. Wiesner, J., Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907.

46. Ziegenspeck, H., Lassen sich Beziehungen zwischen dem Gehalt an Basen in der Asche und dem Stickstoffgehalt der Pflanzen aufstellen usw.? Ber. D. Bot. Ges., Bd. XL. 1922.
47. Zweigelt, F., Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse usw. Zentralbl. f. Bakt. u. Parasit., 2. Abt., Bd. XLII. 1914.

Erläuterung der Figuren auf Tafel VII.

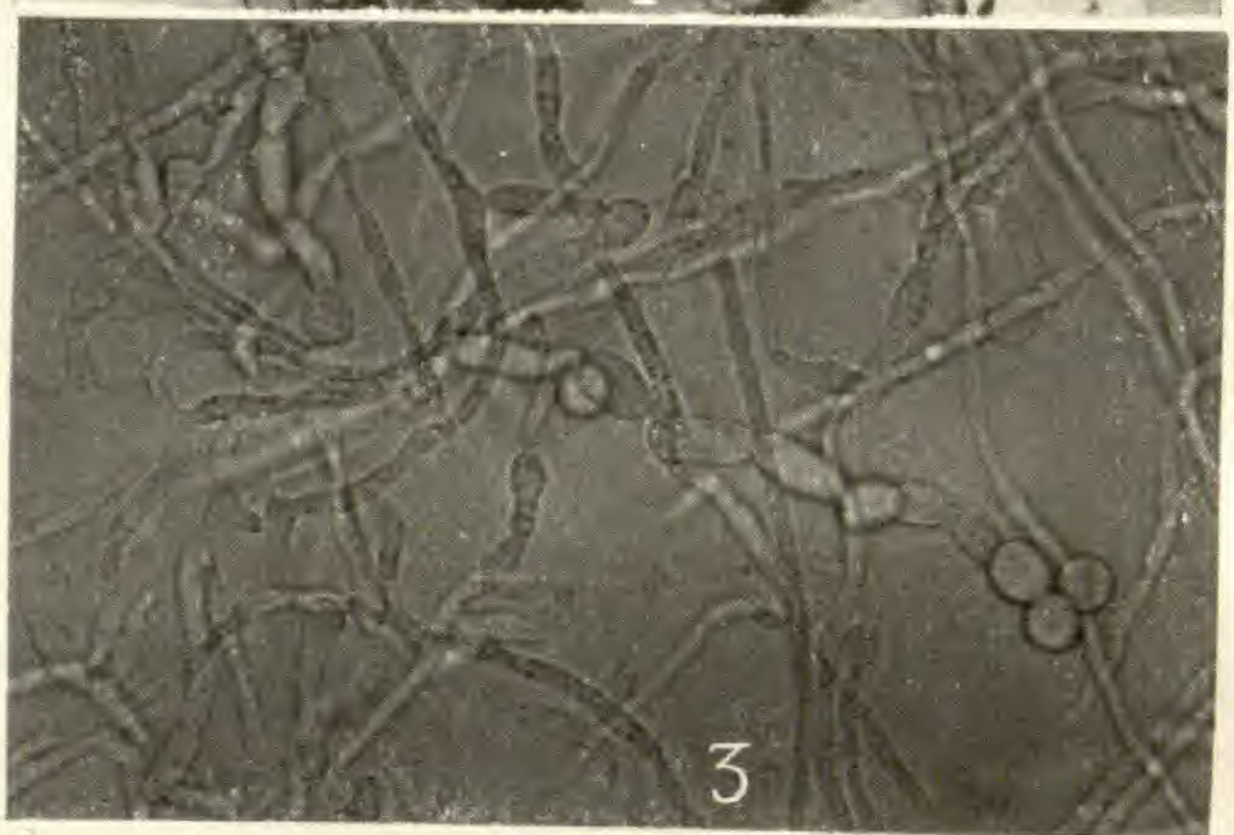
1. Vinca minor pilzfrei (auf $^1/_{10}$ verkleinert).
2. Vinca minor infiziert (auf $^1/_{10}$ verkleinert).
3. Wurzelpilz von Vinca (Rhizoctonia Apocynacearum) mit Konidien in Reinkultur. Vergr. 218fach.
4. Dendritenförmiger Wuchs des Vinca-Pilzes mit sekundärem Myzel auf 1% Saccharose-Agar. Vergr. $^4/_5$.
5. Infektionsstelle, in etwas tangentialem Längsschnitt. Vergr. 346fach.
6. und 7. Körnchenbildung nach der Plasmoptyse, Übergang zur Sporangiolenbildung. Vergr. 358fach.
8. Interzelluläre Hyphen mit „Paarkernen". Vergr. 358fach.
9. Fertige Sporangiolen. Vergr. 456fach.

Berichtigung.

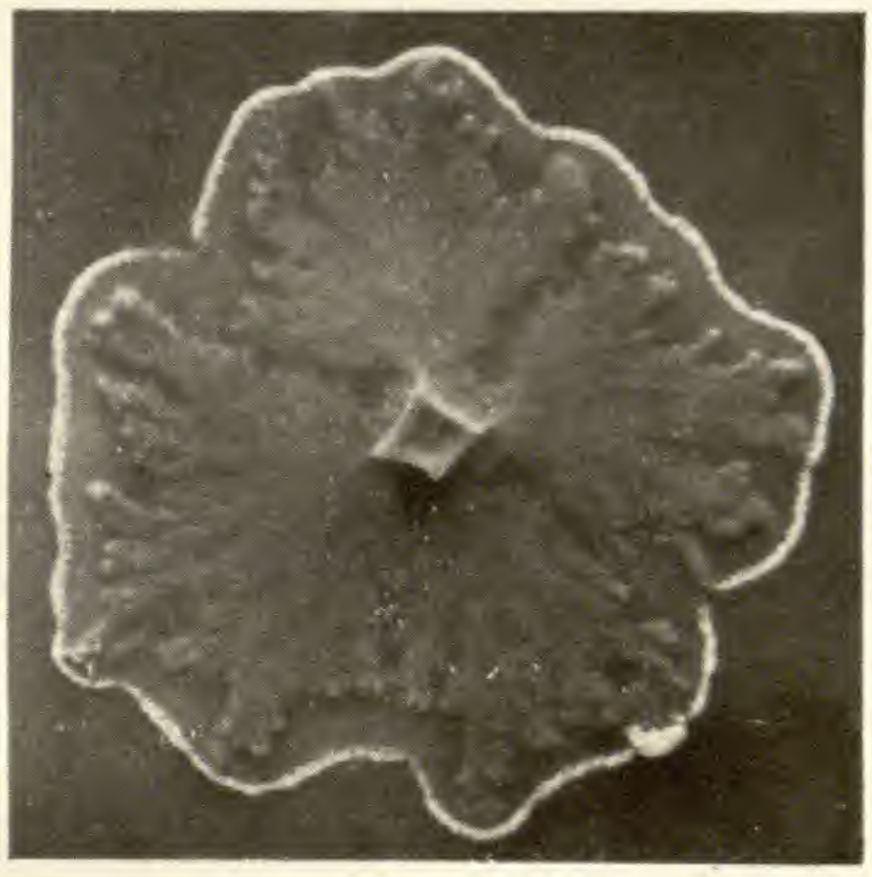
S. 417, Zeile 14 von oben statt Moàvek lies Moràvek.
S. 417, „ 34 „ „ „ Sicherheiit lies Sicherheit.
S. 440, Textzeile 5 von unten lies: f Agar faltig (zusammenziehend).
S. 445, Zeile 7 von unten lies: (s. S. 412).

1

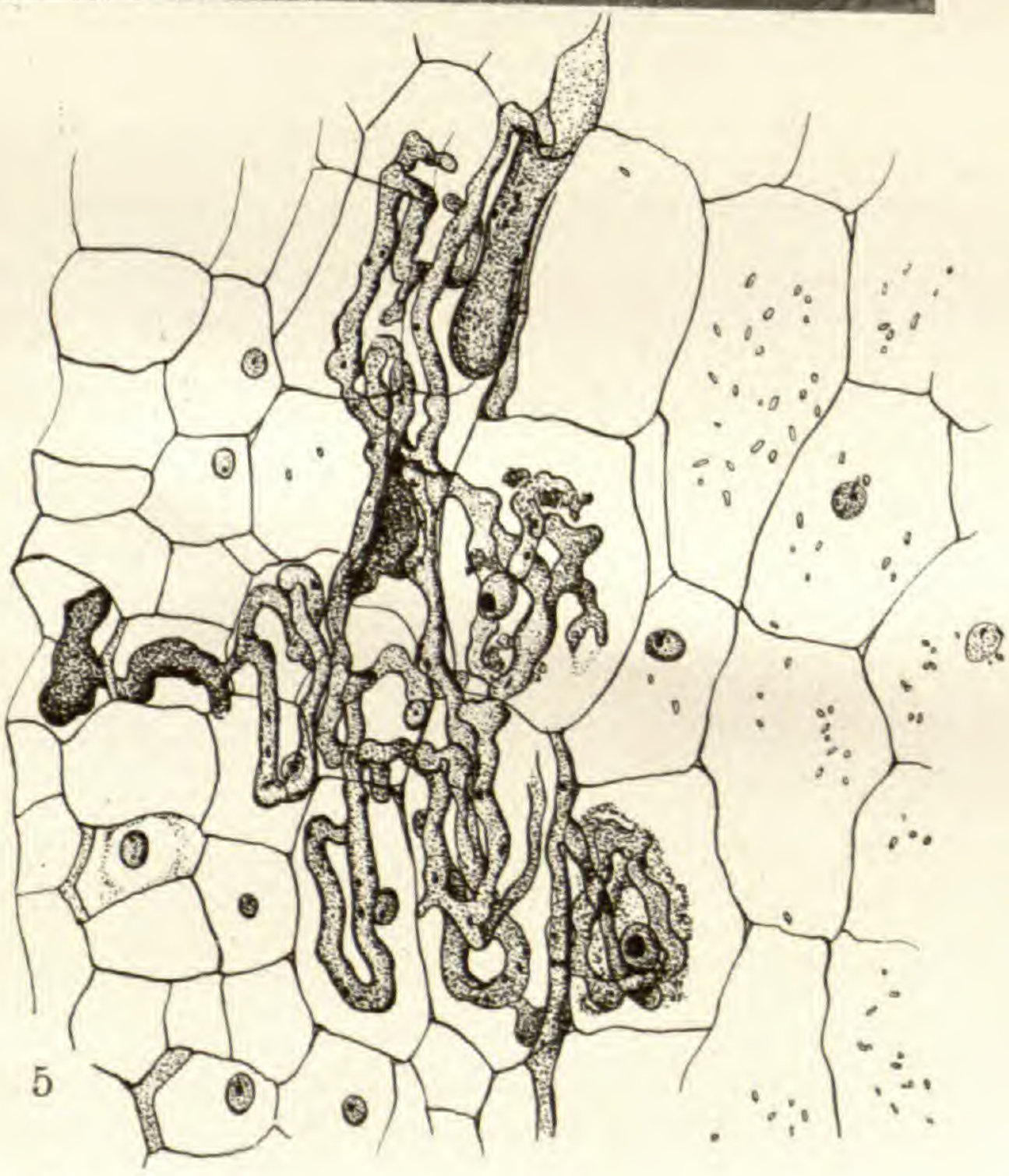
2



3



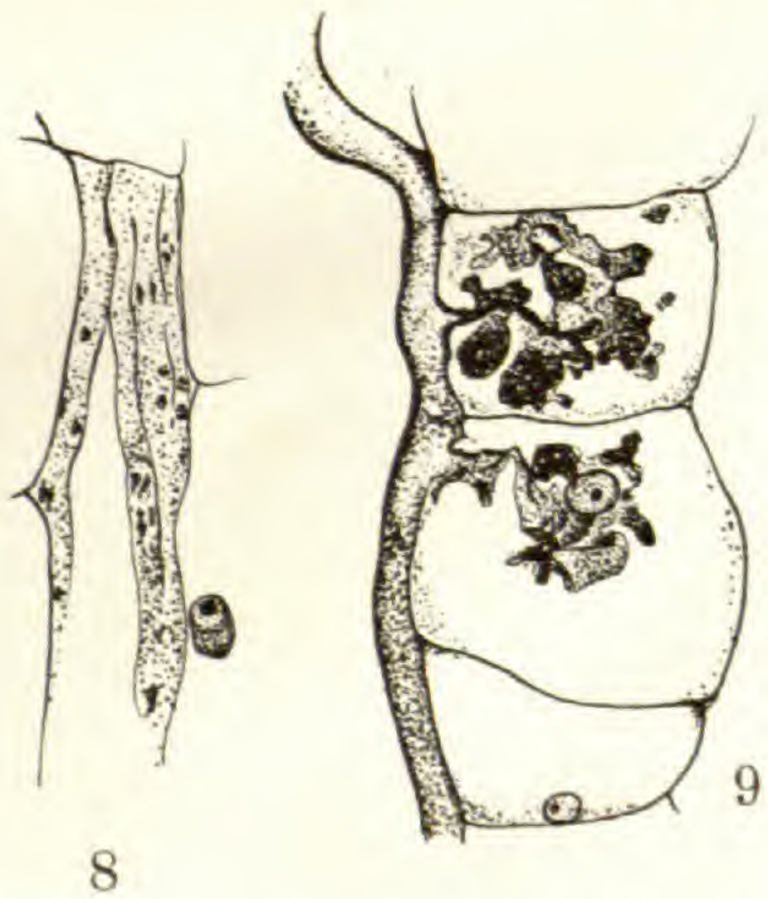
4



5

6

7



8 9

Demeter.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: 116

Autor(en)/Author(s): Demeter Karl

Artikel/Article: Über "Plasmoptysen"-Mykorrhiza 405-456